176-177

Seite

210
225
246
251
266
291
325
341
349
403
431
441
467
473
478
483
490
501

Über den Milchsäuregehalt des Kammerwassers.

Experimentelle Untersuchungen.

I. Mitteilung:

Beziehungen zwischen dem Milchsäuregehalt des Blutplasmas und des Kammerwassers.

Von

Anneliese Wittgenstein und **Alma Gaedertz.**

(Aus der III. medizinischen Klinik und aus der Augenklinik der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 21. Juni 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Über den Gehalt des Kammerwassers an Milchsäure, einer Substanz, die im Blute ständig vorhanden ist und im Zellstoffwechsel eine große Rolle spielt, liegen Untersuchungen bisher nicht vor. Durch die Ausarbeitung einer „kolorimetrischen Mikromethode zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure im Blute" von *Bruno Mendel* und *Ingeborg Goldscheider*[1]), die es erlaubt, einen quantitativen Milchsäurenachweis in einem oder auch nur einem halben Kubikzentimeter Flüssigkeit zu führen, ist es möglich geworden, die Milchsäure im Kammerwasser zu bestimmen.

Wir haben uns nun die Aufgabe gestellt, die Beziehungen zwischen dem Milchsäuregehalt des Blutplasmas und des Kammerwassers zu untersuchen.

Methodisches.

Was die Milchsäurebestimmung als solche angeht, so konnten wir die Methodik von *Mendel* und *Goldscheider* ohne weiteres übernehmen und auf das Kammerwasser übertragen; bezüglich aller technischen Einzelheiten verweisen wir daher auf die oben erwähnte Originalarbeit.

Als Versuchstiere dienten uns Hunde, bei denen bezüglich des Milchsäuregehalts des Blutes — der Ausgangsflüssigkeit also des Kammer-

[1]) *Bruno Mendel* und *Ingeborg Goldscheider*, diese Zeitschr. **164**, 163, 1925, H. 1/3.

wassers — eine weitgehende Analogie besteht zum Menschen. Die notwendige Flüssigkeitsmenge von ½ bis 1 ccm ist ohne weiteres zu entnehmen. Das Kammerwasser wurde — nach vorheriger Anästhesie mit 1 Proz. Holocain (3 bis 4 Tropfen) — durch Punktion der Vorderkammer mit einer feinen, langgeschliffenen Rekordkanüle entnommen. Einstich in die Cornea 1 mm vom Limbus entfernt parallel zur Iris.

Die Blutentnahme geschah aus der Vena metatarsia dorsalis, eine kurze Stauung ließ sich nicht vermeiden, der dadurch bedingte Anstieg der Milchsäure im Blutplasma kann jedoch vernachlässigt werden; er ist sehr gering gegenüber dem Anstieg nach einer stärkeren Muskelarbeit (wie auch aus den Kurven von *Mendel-Goldscheider* ersichtlich).

Vergleichende Milchsäurebestimmungen wurden von uns im Natriumfluoridplasma (etwa 15 mg NaF auf 5 ccm Blut) durchgeführt. Wir hatten uns vorher überzeugt, daß die Milchsäurereaktion durch NaF nicht gestört wird. Das Blut, das sonst bei der Verdünnung durch Wasser lackfarben klar ist, wird getrübt. Bei dem Hinzufügen der Metaphosphorsäure zwecks Enteiweißung tritt zur vorhandenen braungrauen Färbung ein lila Ton hinzu; das eiweißfreie Filtrat aber ist klar und farblos und ergibt bei der Verarbeitung dieselben Resultate im Fluoridblut wie im Vollblut.

Das Kammerwasser ist ebenso wie das Blut sofort nach der Entnahme verarbeitet worden; mindestens bis zur Entfernung der Kohlehydrate, so daß eine Vermehrung der Milchsäure nachträglich nicht mehr stattfinden konnte[1]) (außerdem wird durch NaF die Glykolyse als Hauptquelle der Vermehrung der Milchsäure extra vitam gehemmt).

Wir haben die Methode, bevor wir sie zur Analyse des Kammerwassers anwandten, an wässerigen Lösungen von bestimmtem Milchsäuregehalt nachgeprüft und uns überzeugt, daß bei *genauer Innehaltung* der in der zitierten Arbeit angegebenen Technik die Milchsäure quantitativ wiedergefunden wird. Die Hauptschwierigkeit liegt, wie schon von den Verfassern betont, darin, eine einwandfreie Schwefelsäure (*Kahlbaum*) zu erhalten.

Der Milchsäuregehalt des Kammerwassers unter physiologischen Bedingungen.

Zunächst galt es, den Milchsäuregehalt des normalen Kammerwassers festzustellen. Die neueren Untersuchungen über den Zucker- und Elektrolytgehalt des Kammerwassers haben genügend gezeigt,

[1]) Wird das Kammerwasser ohne Natriumfluoridzusatz nicht in den ersten 15 Minuten nach der Punktion der Vorderkammer bestimmt, so kommt man zu ganz falschen Resultaten. Die Werte werden durch Glykolyse um so höher, je größer die Zeitdifferenz zwischen der Entnahme und der Verarbeitung des Kammerwassers ist. Diese Verhältnisse ebenso wie die Hemmung der Glykolyse durch NaF-Zusatz veranschaulicht die folgende Tabelle.

Zeit nach der Punktion	Milchsäuregehalt des Kammerwassers		Zeit nach der Punktion	Milchsäuregehalt des Kammerwassers	
	ohne NaF mg-Proz.	mit NaF mg-Proz.		ohne NaF mg-Proz.	mit NaF mg-Proz.
0′	22	22	30′	28	22
15	24,5	24	45	33	24

daß die Analyse des Kammerwassers in bezug auf einen Bestandteil des Blutes nur Wert hat im Vergleich mit der gleichzeitigen Bestimmung eben dieser Substanz im Blute selbst, besser im Blutplasma. Für den Stoffaustausch zwischen Blut- und Gewebeflüssigkeiten, besonders zwischen Blut und Liquor und Blut und Kammerwasser, kommt ja in erster Linie das Blutplasma in Betracht.

1. Der Milchsäuregehalt des Kammerwassers im Vergleich zum Milchsäuregehalt des Blutes bei Muskelruhe.

Wir haben den Milchsäuregehalt des Kammerwassers zunächst untersucht im Vergleich zum Milchsäuregehalt *des Blutes bei Muskelruhe. Mendel-Goldscheider* haben nachgewiesen, daß nach längerer völliger Muskelruhe der Milchsäuregehalt des Blutes beim Menschen sich auf einen bestimmten konstanten Wert einstellt, den sie als den Ruhewert des Individuums bezeichnen. Die geringe Schwankungsbreite dieser einzelnen Ruhewerte zeigte, daß es einen Blut-Milchsäurespiegel beim Menschen gibt.

Es ist uns gelungen, auch die Versuchstiere (Hunde) für 15 bis 20 Minuten in völliger Muskelruhe zu halten, so daß wir den Ruhewert der Milchsäure im Blutplasma bestimmen konnten. Diese Bestimmungen haben wir in fünf Versuchen bei verschiedenen Tieren durchgeführt, bei denen gleichzeitig das Kammerwasser entnommen und auf seinen Milchsäuregehalt untersucht wurde.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist in Tabelle I zusammengestellt, bezüglich der experimentellen Einzelheiten vergleiche Methodik.

Tabelle I.

Milchsäurebestimmungen in Plasma und Kammerwasser bei Muskelruhe.

Nr.	Hund	Datum 1926	Milchsäuregehalt im Plasma mg-Proz.	Milchsäuregehalt im Kammerwasser mg-Proz.
1	Tick, ♀	23. III.	17,0	22,0
2	Harry, ♂	23. II.	17,5	23,5
3	Harry, ♂	10. III.	17,0	20,5
4	Lux, ♂	23. III.	16,0	21,0
5	Lux, ♂	2. II.	18,0	24,0

Die Milchsäurewerte im Plasma betrugen zwischen 16 und 18 mg-Proz., Werte, die denen beim Menschen in eigenen Untersuchungen gefundenen durchaus entsprechen. Der Milchsäuregehalt des Vollbluts ist bedeutend geringer als der des Plasmas, in den eigenen Versuchen um rund 25 bis 30 mg-Proz. Es gibt also auch beim Tier (Hund) für die Milchsäure einen Ruhewert des Individuums.

Der Milchsäuregehalt des Kammerwassers betrug zwischen 20,5 und 24 mg-Proz., bewegte sich also zwischen engen Grenzen, anders ausgedrückt, es gibt *beim ruhenden Tier einen Milchsäurespiegel im Kammerwasser.*

Der Milchsäurespiegel im Kammerwasser liegt bei allen Untersuchungen höher als der „Ruhewert" des gleichzeitig entnommenen Plasmas.

Bei den Versuchen 1 bis 3 sieht man bei dem gleichen Milchsäurespiegel im Plasma verschiedene Werte im entsprechenden Kammerwasser. Es entspricht also nicht etwa einem bestimmten Milchsäurewert im Plasma ein bestimmter Milchsäurewert im Kammerwasser, auch nicht bei demselben Tier.

II. Der Milchsäuregehalt des Kammerwassers im Vergleich zum Milchsäuregehalt des Blutes nach Muskelarbeit.

Es kam uns nun darauf an, den Einfluß länger dauernder Muskelarbeit auf den Milchsäuregehalt des Kammerwassers zu untersuchen. Wir haben zu diesem Zwecke zwei Versuche angestellt, bei denen die Tiere für längere Zeit gehetzt wurden. Es wurden zwei Hunde etwa 20 Minuten Treppen herauf und herab gejagt. Sie blieben danach keuchend, an allen Flanken zitternd, ruhig auf dem Tische liegen. Der Milchsäuregehalt des Plasmas und Kammerwassers wurde in den angegebenen Zeitabständen vergleichend bestimmt. Über die Ergebnisse siehe Tabelle II.

Tabelle II.

Milchsäuregehalt des Kammerwassers und Blutplasmas nach Muskelarbeit.

Zeit nach Ende der Muskelarbeit	Tick			Lux		
	Milchsäuregehalt		Bemerkungen	Milchsäuregehalt		Bemerkungen
	Plasma	Kammerwasser		Plasma	Kammerwasser	
Stdn.	mg-Proz.	mg-Proz.		mg-Proz.	mg-Proz.	
0	56,0	R. 38,0	Punktion der Vorderkammer 4 Min. nach der Venenpunktion	37,0	L. 33,5	Lux lief weniger u. weniger schnell als Tick, hatte nach 5 Min. Laufen 10 Min. Zwischenruhe u. ist dann weitere 10 Min. gehetzt worden, er ist sichtlich weniger abgehetzt als Tick
1/2	26,5	—		—	—	
3/4	—	—		17,0	R. 27,5	
1	21,0	L. 30,0		—	—	
1 1/2	18,0	—		—	—	
2 1/4	—	—		13,5	—	

Bei beiden Versuchstieren ist nach starker Muskelarbeit der Milchsäuregehalt des Blutplasmas auf das Mehrfache — bei dem Hunde Lux um etwa das Doppelte, bei dem Hunde Tick um das $3\frac{1}{2}$fache — gestiegen. Der geringere Anstieg bei Lux erklärt sich aus einer geringeren Muskelanstrengung (siehe Bemerkung der Tabelle II). Es ist die Milch-

säure im Plasma bei Lux nach ¾ Stunden, bei Tick nach 1 Stunde — allerdings nicht ganz — zum Ruhewert abgefallen.

Der Milchsäuregehalt des Kammerwassers ist bei Lux um etwa die Hälfte, bei dem Hunde Tick um etwa das Doppelte des Ruhe- (Ausgangs-) Wertes angestiegen. Der Milchsäureanstieg im Kammerwasser bei Lux ist also absolut genommen geringer als bei Tick, relativ aber im Verhältnis zum Plasma ist der Anstieg der Milchsäure im Kammerwasser stärker. Nach ¾ Stunden ist bei Lux der Milchsäurespiegel des Kammerwassers bei Muskelruhe noch nicht erreicht, sondern liegt um 16 Proz. darüber, bei Tick liegt er nach 1 Stunde noch um 25 Proz. über dem Ruhewert.

Die Ergebnisse hinsichtlich des Milchsäuregehalts des Blutes bei Muskelruhe und Muskelarbeit stimmen genau mit denen überein, die *Mendel* und Mitarbeiter bei den gleichen Untersuchungen am Menschen gefunden haben. Sie haben gezeigt, daß nur bei längerer Dauer der Muskelarbeit ein allmählicher Abfall der Kurve des Arbeitsanstiegs der Milchsäure stattfindet. Ihre Untersuchungen beziehen sich auf das Vollblut, unsere auf das Plasma. Ein prinzipieller Unterschied zwischen dem Verhalten der Milchsäurewerte im Vollblut und Plasma nach Muskelarbeit besteht nicht (nur ist die Kurve im Vollblut niedriger und flacher). An dieser Stelle soll auf diese Verhältnisse nicht näher eingegangen werden. Was uns hier interessiert, ist das Verhalten der Milchsäure im Kammerwasser nach Muskelarbeit, besonders im Verhältnis zum Anstieg und Abstieg der Milchsäure im Blutplasma. Das Verhältnis dieser Milchsäurewerte sei zum besseren Verständnis veranschaulicht in einer graphischen Darstellung.

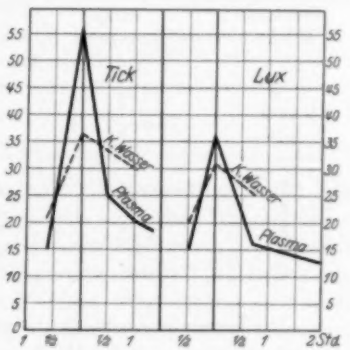


Abb. 1.

Es geht aus dem Verlauf der Kurven hervor, daß zwar der Anstieg der Milchsäure im Kammerwasser ebenso steil — wenn auch nicht ebenso hoch — ist wie der Anstieg der Milchsäure im Plasma, daß aber der Abfall der Milchsäure zur Norm viel flacher verläuft als im Plasma, anders ausgedrückt bedeutend langsamer erfolgt.

Diese Verschiedenheit des Kurvenverlaufs erklärt, warum der höchste Wert der Milchsäure im Kammerwasser bei dem einen Tier (Lux), das zwischen zweimaliger Muskelarbeit eine fast 10 Minuten lange Ruhepause gehabt hat, nur um ein geringes hinter dem Höchstwert des Plasmas zurückbleibt. Während der Plasmawert nach der

ersteren größeren Muskelarbeit in steilem Abfall gesunken ist und den Höchstwert nach der zweiten kürzeren nicht wieder erreicht hat, hat der langsame Abfall der Milchsäure im Kammerwasser zur Folge, daß zur Zeit der Punktion in diesem der Milchsäurewert noch relativ hoch ist. Ein Blick auf die Kurven läßt auch erkennen, daß in einem bestimmten Zeitpunkt, der graphisch gesprochen auf dem absteigenden Schenkel beider Kurven liegt, der Milchsäuregehalt des Kammerwassers gleich dem des Plasmas ist.

Der Milchsäurespiegel des Kammerwassers bei anderen Warmblütern.

Die Übertragung der am Hundeauge gewonnenen Ergebnisse auf das Warmblüterauge überhaupt schien von vornherein wahrscheinlich. Totzdem glaubten wir auf die entsprechenden Untersuchungen an anderen Tierarten nicht verzichten zu sollen. Wir haben zunächst, um den Ruhewert des Plasmas und Kammerwassers zu erhalten, unter analogen Bedingungen wie bei den Hunden die Milchsäurebestimmungen ausgeführt, die Tiere also für etwa 20 Minuten ruhig gehalten. Ein Zappeln bei der Blutentnahme war nicht immer zu vermeiden. Diese Untersuchungen sind zusammengestellt in Tabelle III.

Tabelle III.

Milchsäurebestimmungen in Plasma und Kammerwasser bei anderen Warmblütern.

Versuch Nr.	Tierart	Vollblut mg-Proz.	Plasma mg-Proz.	Kammerwasser mg-Proz.
1	Kaninchen	40	52	23
2	„	41	46	29
3	„	36	44	$27^1/_2$
4	„	49	55	38
5	Katze	57	63	38

Die Ergebnisse schienen zunächst überraschend. Bei den Kaninchen und der Katze blieb der Milchsäurewert des Kammerwassers weit hinter den Werten im Blutplasmas zurück. Zwei Möglichkeiten gab es nur als Erklärung. Entweder die von uns festgestellten Tatsachen in bezug auf den Milchsäuregehalt des Kammerwassers, in bezug auf das Verhältnis vor allem zum Blutplasma, betrafen nur eine singuläre, durch irgendwelche lokale Besonderheit bedingte Erscheinung im Hundeauge, oder aber sie entsprachen einer allgemeinen Gesetzmäßigkeit; dann konnte es sich bei den gefundenen Milchsäurewerten im Plasma und Kammerwasser bei den anderen Warmblütern trotz scheinbarer Bewegungslosigkeit der Tiere nicht um Ruhewerte handeln. Diese Plasmawerte

waren nun im Vergleich zu den bei Menschen und Hunden gefundenen Ruhewerten außerordentlich hoch. Werte von 40 bis 50 mg-Proz. Milchsäure finden sich dort nur nach längerer und ausgedehnter Muskelarbeit.

Ist dieser Unterschied, fragten wir uns, dadurch bedingt, daß es sich bei den Kaninchen und Katzen nicht um wirkliche Ruhewerte handelt, weil bei diesen kleinen Tieren jeder Bewegungsimpuls, jeder Sinnesreiz, jede affektive Erregung zu einer Tonisierung der gesamten Körpermuskulatur führt, bedingt also durch einen ständigen Wechsel zwischen Spannung und Entspannung, der zu einem stärkeren Glykoseumsatz und damit relativ höheren und wechselnden Milchsäurewerten führt?

Zur Entscheidung dieser Frage brachten wir die Kaninchen und Katzen künstlich in mehrstündige tiefe Schlafruhe durch Urethaninjektionen (etwa 2 g Urethan pro Kilogramm Körpergewicht beim Kaninchen, bei Katzen das Doppelte) und bestimmten dann die Milchsäurewerte im Plasma und Kammerwasser. Die Resultate folgen in Tabelle IV.

Tabelle IV.

Wirkliche Ruhewerte der Milchsäure bei Katzen und Kaninchen.

Versuch Nr.	Tierart	Vollblut mg-Proz.	Plasma mg-Proz.	Kammerwasser mg-Proz.
1	Katze (a)	27	31	27
2	„ (b)	20½	24	28
3	Kaninchen	15	17	35
4	„	13	18	26

Die bei Katzen und Kaninchen nach längerer Muskelruhe im Urethanschlaf gefundenen Plasmawerte — die wirklichen Ruhewerte — entsprechen also den Durchschnittszahlen der Ruhewerte bei Mensch und Hund. Der Milchsäuregehalt des Kammerwassers ist gegenüber den wahren Ruhewerten höher als der des Plasmas. Man beachte, wie nach nur kurzer Muskelruhe bei der Katze (a) der Milchsäurewert des Kammerwassers noch hinter dem das Plasmas zurückbleibt, weil er — wie oben auseinandergesetzt — dem Bewegungswert nicht gefolgt ist; nach längerer Muskelruhe sinkt bei nunmehr gleichbleibendem Kammerwassergehalt an Milchsäure der Plasmawert unter den des Kammerwassers.

Die Versuche an Katzen und Kaninchen ergeben also, bei Berücksichtigung des wirklichen Ruhewertes im Plasma, die gleichen Ergebnisse wie beim Hund in bezug auf den absoluten Gehalt des Kammerwassers an Milchsäure sowohl, als auf das Verhältnis des Milchsäurespiegels im Kammerwasser zum Milchsäurespiegel im Blute.

Es handelt sich bei den von uns festgestellten Tatsachen um eine allgemeine physiologische Gesetzmäßigkeit.

Die Differenz der Ergebnisse zwischen den Milchsäurebestimmungen bei den normalen Kaninchen und denen im Urethanschlaf zeigt aufs deutlichste, wie notwendig es ist, bei allen Untersuchungen, die sich auf den Milchsäurestoffwechsel beziehen, auszugehen von dem Ruhespiegel des Blutes (Feststellung und Begriff stammen von *Mendel*). *Es hat der Ruhespiegel des Blutes für die Untersuchungen des Milchsäurestoffwechsels dieselbe Bedeutung wie der Nüchternspiegel des Blutes für Untersuchungen des Zuckerstoffwechsels.* In bezug auf das Kammerwasser würde man, ausgehend von den bei Kaninchen nach scheinbarer Muskelruhe gefundenen schwankenden Plasmawerten, die Milchsäurewerte des Kammerwassers niedriger gefunden haben als die des Blutes. Man wäre also an der Tatsache vorbeigegangen, daß immer da, wo der Ruhespiegel im Plasma die Ausbildung eines Verteilungsgleichgewichts ermöglicht, der Kammerwasserspiegel der Milchsäure höher liegt als der des Blutes.

Aus diesen Tatsachen geht hervor, daß die Kaninchen (für Ratten wird wahrscheinlich dasselbe gelten) ohne besondere Vorsichtsmaßnahmen ungeeignete Testobjekte sind für Untersuchungen des Milchsäurestoffwechsels.

Die Schwankungsbreite der Blutmilchsäure bei Kaninchen ist auch anderen Untersuchern aufgefallen. *Collazo* und *Susniewsky*[1]) fanden Differenzen von 13 bis 135 mg-Proz., ähnliche Angaben finden sich bei *Baur*[2]). Diese Autoren sind, da sie von einem berechneten Mittelwert ausgehen (obwohl er aus der Untersuchung von 64 Kaninchen gewonnen war), bei ihren „Studien über den Einfluß des Insulins und einiger anderer Stoffe auf den Milchsäurestoffwechsel" gelegentlich zu falschen Resultaten und Deutungen gekommen. So hat z. B. das Insulin, wie aus der Arbeit von *Mendel* hervorgeht, keinerlei Einfluß auf den Milchsäureumsatz.

Die Frage der Erhöhung des Milchsäurespiegels im Kammerwasser gegenüber dem des Plasmas.

Relativ einfach bzw. eindeutig liegen die Milchsäureverhältnisse zwischen Plasma und Kammerwasser nach Muskelarbeit. Die Milchsäurewerte im Kammerwasser folgen dem Anstieg der Milchsäurewerte im Plasma (nach Muskelarbeit), erreichen bzw. übersteigen sie aber nicht, weil der höchste Punkt der Kurve zugleich ihr Umbiegungs-

[1]) *Collazo* und *Susniewsky*, diese Zeitschr. **154**, H. 3/6.
[2]) *Baur*, Hoppe-Seyler **141**, 1924.

punkt ist, es also nicht zur Ausbildung eines Gleichgewichts zwischen dem Milchsäuregehalt des Plasmas und Kammerwassers kommen kann. Anders ist es mit der Deutung der höheren Werte des Milchsäurespiegels im Kammerwasser gegenüber dem Ruhewert des Plasmas. Uns hat diese Frage sehr beschäftigt, um so mehr, als die Milchsäurewerte im Liquor stets unter dem Ruhewert des Plasmas liegen, wie wir aus eigenen Versuchen wissen, über die gesondert berichtet wird.

Ist der gegenüber dem Plasma höhere Milchsäurespiegel im Kammerwasser bedingt durch einen von der Netzhaut gebildeten Anteil?

Im *Warburg*schen Institut ist durch *E. Negelein*[1]) nachgewiesen worden, daß die Warmblüterretina zu den wenigen Geweben gehört, die aerob Milchsäure bilden. Die Untersuchungen geschahen im überlebenden Gewebe, das sich in Ringerlösung oder Serum befand. Der Gedanke, die Vermehrung der Milchsäure im Kammerwasser gegenüber dem Plasma in Zusammenhang zu bringen mit einer Milchsäurebildung in der Retina, war a priori nicht von der Hand zu weisen, wenn auch der Weg ins Kammerwasser nicht ohne weiteres zu erklären wäre. Wir haben daher in dieser Richtung einen Versuch angestellt, indem wir prüften, ob eine Änderung des Reizzustandes der Netzhaut (Licht und Dunkel) einen Einfluß auf den Milchsäuregehalt des Kammerwassers hätte.

Versuch. Einfluß von Licht und Dunkel auf den Milchsäuregehalt des Auges.

Methode. Zwei Hunde wurden am ersten Versuchstage um 9 Uhr früh auf dem Laboratoriumstisch vor das Fenster gestellt. Die Hunde lagen ruhig, sahen hinaus; zunächst Sonnenlicht, dann heller Himmel. Um 3 Uhr Kammerwasserpunktion und Blutentnahme; vor letzterer sind die Hunde unruhig, bellen aufgeregt und laufen herum.

Milchsäureanalyse nach 6 Stunden Belichtung.

	Lux mg-Proz.	Tick mg-Proz.
Plasma	21	21
Kammerwasser . . .	20	21

Die Hunde wurden dann (um 3 Uhr mittags) in einen Dunkelraum bis zum nächsten Morgen um 8 Uhr 30 Minuten gesperrt und dann bei Rotlicht punktiert.

[1]) *Erwin Negelein*, diese Zeitschr. **165**, 122, 1925, H. 1/3.

Milchsäureanalyse nach 18 Stunden Dunkelheit.

	Lux mg-Proz.	Tick mg-Proz.
Plasma	16	17
Kammerwasser . . .	21	22

Ergebnis. Der Kammerwassergehalt an Milchsäure zeigt keinen Unterschied zwischen den Werten nach der intensiven Belichtung und denen langen Dunkelaufenthalts; auch keine Veränderung des absoluten Milchsäuregehalts gegenüber der Norm.

Die relative Verminderung des Kammerwasserwertes gegenüber dem Plasmawert im Lichtversuch ist durch dessen Steigerung gegenüber dem Ruhewert bedingt (durch die kurzfristige Muskelarbeit). In bezug auf den Ausgangspunkt unserer Versuche ist zu sagen, daß sie den Beweis dafür erbringen, daß die Erhöhung des Milchsäuregehalts des Kammerwassers gegenüber dem Blutplasma durch einen von der Netzhaut gebildeten Anteil an Milchsäure nicht zu erklären ist. In bezug auf die Verwertung der Versuche für die Frage der aeroben Glykolyse der Netzhaut möchten wir sehr vorsichtig sein. *Negelein* selbst hat übrigens die aerobe Glykolyse in vivo für unwahrscheinlich gehalten, da in der Retina der Kaltblüter eine aerobe Glykolyse nicht stattfand, und er das von ihm gefundene Auftreten in vitro auf eine in den Versuchsbedingungen begründete Schädigung der empfindlichen Warmblüternetzhaut zurückführt.

Entspricht der gegenüber dem Plasma höhere Milchsäurespiegel im Kammerwasser den Verhältnissen im Modellversuch?

Es kamen theoretisch noch andere Möglichkeiten in Betracht, um den höheren Milchsäurewert des Kammerwassers zu erklären. Vom Standpunkt der Dialysattheorie aus mußte man daran denken, daß die Milchsäure, die sich unmittelbar nach ihrer Bildung mit den Na-Proteinen der Gewebe zu Natriumlactat umsetzt [*Hill*[1])] und als solches (Na^+L^-) im wesentlichen im Blute enthalten ist, obwohl schwach dissoziiert, sich verhält wie ein Elektrolyt. Sie könnte sich dann infolge ihrer anodischen negativen Ladung im praktisch eiweißfreien Kammerwasser anreichern, gleichsam in dasselbe abgestoßen werden, nach den Gesetzen der negativen Adsorption am Bluteiweiß bzw. des Donnangleichgewichts. Dieser Frage, der Frage also, ob auch in bezug auf die

[1]) *Hill, Long* und *Lupton*, Proc. of the Royal Soc. **96**, 1. November 1924.

Milchsäure sich das Kammerwasser verhält wie ein Dialysat (Ultrafiltrat) des Blutplasmas, sind wir im Modellversuch nachgegangen. Wir haben das Kammerwasser angesehen als eine eiweißfreie Flüssigkeit, die durch eine Dialysiermembran (Kapillarwand-Ciliarepithel) von einem eiweißreichen Medium, dem Blutplasma, getrennt ist. Festzustellen war, ob die Milchsäure sich unter entsprechenden Bedingungen auch im Dialysiersystem auf der eiweißfreien Seite anreichert gegenüber der eiweißreichen, ob also die Natur der Medien bzw. die Reaktion des Milieus die Anreicherung der Milchsäure im Kammerwasser bedingt.

Das Ergebnis sei vorausgenommen: Wir haben in zahlreichen Versuchen feststellen können, daß bei der Dialyse einer Calcium- oder Lithiumlactat enthaltenden Gelatinelösung — bei einer p_H von 7,4, entsprechend der auf der alkalischen Seite des isoelektrischen Punktes liegenden Reaktion des Blutes — nach 2 bis 3 Stunden ein Verteilungsgleichgewicht erreicht ist, das zu einem Ausgleich zwischen der Milchsäure der Innen- (eiweißhaltigen) Flüssigkeit und der Außen- (eiweißfreien) Flüssigkeit geführt hatte. Dies Verteilungsgleichgewicht blieb auch bei Variation der H-Ionenkonzentration von der alkalischen Seite über den isoelektrischen Punkt zur sauren Seite unbeeinflußt. Von der Bedeutung dieser Versuche für die Frage der Eiweißbindung der Milchsäure wird an anderer Stelle die Rede sein. Hier interessiert uns zunächst die Feststellung, daß sich ein erhöhter Milchsäuregehalt des Kammerwassers gegenüber dem Plasma nicht durch den Einfluß der reagierenden Medien (negative Adsorption am Bluteiweiß, Donnangleichgewicht) erklären läßt. Bei alkalischer Reaktion müßte die Milchsäure als Anion im Überschuß auf der eiweißfreien Seite des Systems enthalten sein.

Dialysierversuche.

Methodik. Als Dialysierhülsen dienten selbstverfertigte Kollodiumhülsen. Diese wurden mittels eines durchbohrten Korkens in Glaskölbchen gehängt. Sie wurden innen mit 5proz. Gelatinelösung von der betreffenden p_H, außen mit 0,85proz. Kochsalzlösung von derselben p_H (bestimmt mit der Indikatorenreihe von *Michaelis*) beschickt. Die Milchsäure wurde als Calcium- oder Lithiumlactat zugesetzt. Der Milchsäuregehalt beider Lösungen wird vor und nach der Dialyse auch außerhalb des Dialysesystems bestimmt. Dialysierversuch im Brutschrank, Temperatur 38°.

Von vielen übereinstimmenden Versuchen geben wir als Beleg zwei Protokolle.

Dialysierversuche mit Gelatine, der Calciumlactat hinzugesetzt ist.

Protokoll I.

p_H 4,7.

Innen (Gelatine + Calciumlactat)		Außen (0,85 proz. NaCl)		Calciumlactat außerhalb des Systems	
Milchsäure		Milchsäure		Milchsäure	
vorher mg·Proz.	nachher mg·Proz.	vorher mg·Proz.	nachher mg·Proz.	vorher mg·Proz.	nachher mg·Proz.
14	6	0	6	14	12
28	10½	0	11	28	22
40	16½	0	16½	40	33

Bestimmung nach 2 Stunden.

Protokoll II.

p_H 7,5.

Innen (Gelatine + Calciumlactat)		Außen (0,85 proz. NaCl)		Calciumlactat außerhalb des Systems	
Milchsäure		Milchsäure		Milchsäure	
vorher mg·Proz.	nachher mg·Proz.	vorher mg·Proz.	nachher mg·Proz.	vorher mg·Proz.	nachher mg·Proz.
14	7½	0	7	14	13½
32	12	0	11	32	24
42	16	0	16	42	34½

Bestimmung nach 2 Stunden.

In beiden Versuchen ist nach 2 Stunden der Ausgleich zwischen der Gelatinelactatlösung und der wässerigen — ursprünglich milchsäurefreien — Lösung erfolgt. In anderen, hier nicht protokollierten Versuchen haben wir gesehen, daß auch nach 4 Stunden diese Verteilung die gleiche bleibt. Der völlige Ausgleich des Milchsäuregehalts auf der eiweißhaltigen und der eiweißfreien Seite des Systems entspricht also wirklich dem Verteilungsgleichgewicht. Die Differenz im Milchsäuregehalt, die im System vor und nach der Dialyse besteht, besteht auch außerhalb des Systems zwischen dem Anfangs- und Endgehalt an Calciumlactatlösung, die unter denselben Bedingungen gehalten und nach denselben Zeitabständen bestimmt wurde. Die Erklärung liegt in der Zerstörung der Milchsäure bei der betreffenden Brutschranktemperatur durch Bakterien. Bei absolut steriler Durchführung des Versuches gibt es, wie das folgende Protokoll zeigt, keine Differenz zwischen dem Milchsäuregehalt des Systems vor und nach der Dialyse.

Protokoll III.

p_H 7.5.

Zeit	Außen Wässerige Milchsäurelösung	Innen 5 Proz. Gelatine	Außen Wässerige Milchsäurelösung	Innen 5 Proz. Gelatine	Außen Wässerige Milchsäurelösung	Innen 5 Proz. Gelatine
	Milchsäure in mg-Proz.		Milchsäure in mg-Proz.		Milchsäure in mg-Proz.	
Vor der Dialyse	30	0	31	0	40	0
Nach 2 Stdn. .	16½	15	14½	13	21	19
„ 3 „ .	15	15	16	16	20	20

Der Versuch ist völlig steril gearbeitet.

In den skizzierten Modellversuchen haben wir die Gelatine als Kolloidelektrolyten benutzt. Es war von vornherein unwahrscheinlich, daß hinsichtlich des in Frage stehenden Diffusionsvorganges ein Unterschied bestehen würde gegenüber den Serumeiweißkörpern. Wir haben aber Dialysierversuche auch mit Serum bzw. Plasma (unter Zusatz von NaF) gemacht. Wir haben uns dabei der Schnellkompensationsdialyse von *Rona, Haurowitz* und *Petow*[1]) bedient (Einzelheiten der Methodik l. c.). Aus diesen Versuchsreihen ein Protokoll als Beispiel.

Kompensationsdialyse mit Serum (Schnelldialyse).

Milchsäurebestimmung	Innen (Serum)		Außen (NaCl)		Differenz	
	Milchsäure		Milchsäure		Milchsäure	
	vorher mg-Proz.	nachher mg-Proz.	vorher mg-Proz.	nachher mg-Proz.	vorher mg-Proz.	nachher mg-Proz.
1	30	28	10	10½	+ 20	+ 8
2	25	23½	15	—	+ 10	—
3	20	20	20	19½	+— 0	+½
4	15	17	25	24	+— 0	— 7
5	10	15½	30	28½	—20	—13

Milchsäurebestimmung 1 bis 3 nach ½ Stunde, 4 bis 5 nach ¾ Stunden.

Der Milchsäuregehalt des Serums (Innen-) und der Kochsalz- (Außen-) Lösung wird während der Dialyse nicht geändert in dem System, wo von vornherein die Milchsäurekonzentration auf der einen Seite der Membran gleich der der anderen Seite ist. Das Ergebnis war genau dasselbe: Das Verteilungsgleichgewicht besteht auch hier in einem Ausgleich der Milchsäurekonzentration innerhalb und außerhalb der Dialysiermembran.

Was den Ausgangspunkt unserer Versuche anbetrifft, ist also zu sagen, daß in bezug auf die Milchsäure das Kammerwasser sich anders verhält als das Dialysat des Blutplasmas.

[1]) *P. Rona, F. Haurowitz* und *H. Petow*, diese Zeitschr. **149**, 393, 1924.

In Fortführung unserer Dialysierversuche haben wir geprüft, ob in bezug auf die Einstellung des Verteilungsgleichgewichts ein zeitlicher Unterschied besteht, je nachdem ob die Milchsäure von der kolloidhaltigen in die kolloidfreie oder von der kolloidfreien in die kolloidhaltige Lösung dialysiert. Von den zur Entscheidung dieser Frage angestellten Versuchen (Methodik, s. oben) geben wir, da sie ganz gleichartig verliefen, nur einen im Protokoll wieder.

Zeit	Versuch I. Lithiumlactat außen			Versuch II. Lithiumlactat innen		
	Innen	Außen	Differenz	Innen	Außen	Differenz
	5 proz. Gelatinelösung von p_H 7,5 mg-Proz.	0,85 proz. Na Cl + Lithiumlactat mg-Proz.		5 proz. Gelatine + Lithiumlactat mg-Proz.	0,85 proz. Na Cl von p_H 7,5 mg-Proz.	
Vor der Dialyse	0	37	+ 37	37	0	- 37
2 Stdn. nach der Dialyse	14	25	9	19	$15^1/_2$	$3^1/_2$
4 Stdn. nach der Dialyse	$18^1/_2$	18	$^1/_2$	18	$17^1/_2$	$^1/_2$

Zwischen der eiweißfreien Lithiumlactatlösung und der ursprünglich milchsäurefreien Gelatinelösung besteht nach 2 Stunden noch eine Differenz zugunsten des Milchsäuregehalts der wässerigen Außenflüssigkeit. Nach 4 Stunden ist der Unterschied ausgeglichen. Der Ausgleich zwischen der Gelatinelactatlösung und ursprünglich milchsäurefreien wässerigen Lösung ist dagegen nach 2 Stunden schon fast erfolgt.

Drei gleichgerichtete Versuche ergaben immer dasselbe Resultat: Das Verteilungsgleichgewicht, der völlige Ausgleich des Milchsäuregehalts zwischen der Gelatine- (Eiweiß-) und der Kochsalzlösung tritt langsamer ein, wenn die Milchsäure aus dem kolloidhaltigen Medium in das kolloidfreie Medium diffundiert.

Dieses Ergebnis des Modellversuchs könnte man in Zusammenhang bringen mit den oben angeführten Ergebnissen des Tierversuchs. Es war (nach Muskelarbeit) sowohl im Plasma wie im Kammerwasser der Anstieg der Milchsäurewerte ein hoher — entsprechend einem raschen Austausch der Milchsäure zwischen kolloidhaltigem und kolloidfreiem Medium —, wobei eine Gleichgewichtseinstellung nicht erfolgen kann, weil der Ausgangswert (in diesem Falle Bewegungswert der Milchsäure) sofort absinkt, kein Dauerwert ist. Im absteigenden Teil der Kurve steht der langsame Abstieg der Milchsäure im Kammerwasser im Gegensatz zum steilen im Plasma. Wir würden dann nach der nur kurzfristigen Muskelarbeit, wie sie das Tier leistet, wenn es nicht wie im Versuch Tabelle II zu besonderer Bewegung getrieben oder wie in den Versuchen S. 7/8 in langdauernder Ruhe gehalten wird, den Zustand erwarten dürfen, daß die Milchsäure des Kammerwassers bei ihrer langsameren

Abwanderung noch nicht den Ruhewert des Plasmas erreicht hat, wenn das Muskelspiel dem Plasma schon wieder neue Steigerung zugeführt hat. Bei einer kurzen Muskelruhe wäre also ohne weiteres zu verstehen, daß das Blutplasma schon, noch nicht aber das Kammerwasser den Ruhewert erreicht hat. Wenn es nur auf diese physikalischen Faktoren ankäme, müßten wir aber nach einer langdauernden Muskelruhe einen Ausgleich zwischen Kammerwasser und Blutplasma haben. Nach unseren bisherigen Untersuchungen ist das aber nicht der Fall. Man vergleiche hierzu das Ergebnis des Dunkelversuchs. Die Plasmawerte in diesem Versuche waren „Ruhewerte" und sind aller Wahrscheinlichkeit nach auf die Nachtruhe der Tiere zu beziehen (man vergleiche den Versuch).

Die Ursache also, warum der Milchsäurespiegel im Kammerwasser höher liegt als der Milchsäurespiegel des Blutplasmas, ist noch nicht geklärt. Weder eine Milchsäurebildung in der Retina noch ein Verteilungsgleichgewicht der Milchsäure zwischen Plasma und Kammerwasser im Sinne einer negativen Adsorption am Bluteiweiß oder eines *Donnan*schen Membrangleichgewichts kommen als Ursache des höheren Milchsäurespiegels in Betracht. Wir müssen uns damit begnügen, diese Tatsache zunächst als solche hinzustellen.

Untersuchungen, ob der Milchsäuregehalt des Kammerwassers beeinflußt wird durch den Wechsel der Bedingungen im Auge selbst, durch lokale Verhältnisse also, werden den Gegenstand unserer nächsten Mitteilung bilden.

Zusammenfassung.

Der Milchsäuregehalt des Kammerwassers bei Warmblütern (Hunde, Katzen, Kaninchen) wurde unter wechselnden physiologischen Bedingungen experimentell untersucht.

Es ergaben sich folgende Tatsachen:

I. 1. Der Milchsäuregehalt des Kammerwassers ist weitgehend abhängig vom Milchsäuregehalt des Blutplasmas.

2. Es entspricht dem konstanten Ruhewert der Milchsäure im Blutplasma ein konstanter Ruhewert der Milchsäure im Kammerwasser.

3. Der Ruhewert der Milchsäure des Kammerwassers liegt (nach wirklicher Muskelruhe) höher als der Ruhewert des gleichzeitig entnommenen Plasmas.

Es entspricht dem Ruhewert von 15 bis 18 mg-Proz. im Plasma (Mensch, Hund) ein Milchsäuregehalt des Kammerwassers von 20 bis 24 mg-Proz.

4. Für Untersuchungen des Milchsäurestoffwechsels sind Kaninchen (auch Katzen) als Versuchstiere ungeeignet. Der konstante Ruhewert

im Plasma, der für diese Untersuchungen ebenso notwendig ist wie der Nüchternwert für Untersuchungen des Zuckerstoffwechsels, ist bei diesen Tieren nur durch besondere Maßnahmen zu erreichen.

5. Den wechselnden Bewegungswerten im Plasma entsprechen auch wechselnde Werte der Milchsäure im Kammerwasser.

Der Milchsäuregehalt des Kammerwassers steigt nach Muskelarbeit an, folgt dem Anstieg der Milchsäure im Plasma, ohne jedoch den höchsten Bewegungswert des Plasmas zu erreichen.

Der Milchsäuregehalt des Kammerwassers sinkt langsamer zum Ruhewert ab als der Milchsäuregehalt des Plasmas.

II. 1. Die Frage der Erhöhung des Milchsäurespiegels im Kammerwasser gegenüber dem Ruhewert des Plasmas wird untersucht.

Der Kammerwassergehalt an Milchsäure zeigte keinen Unterschied nach intensiver Belichtung und langem Dunkelaufenthalt der Versuchstiere.

Die Erhöhung des Milchsäuregehalts des Kammerwassers gegenüber dem Blutplasma ist nach unseren Ergebnissen nicht zu erklären durch einen von der Netzhaut gebildeten Anteil an Milchsäure.

2. Die Dialyse von Serum gegen physiologische Kochsalzlösung durch eine Kollodiummembran führt zu einem Ausgleich der Milchsäure auf beiden Seiten des Systems.

3. Auch das Diffusionsgleichgewicht zwischen einer Calcium- oder Lithiumlactat enthaltenden Gelatine und einer reinen Kochsalzlösung besteht in einem Ausgleich des Milchsäuregehalts zwischen der kolloidhaltigen und der kolloidfreien Seite der Membran.

4. Die H-Ionenkonzentration hatte keinen Einfluß auf die Art des Verteilungsgleichgewichts der Milchsäure.

Nach den Ergebnissen unserer Modellversuche verhält sich die Milchsäure im Kammerwasser anders als im Dialysat des Blutplasmas.

Die Oxydationskatalyse durch Adrenalin.

Von

J. Roest.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Reichsuniversität zu Groningen.)

(Eingegangen am 21. Juni 1926.)

Verläuft eine Reaktion, z. B. die Reaktion $A + B \rightarrow AB$ langsam, so kann dies verschiedene Ursachen haben. Die naheliegendste Ursache könnte sein, daß die Reaktionskonstante niedrig ist. Es kann aber auch sein, daß die Reaktion an und für sich rasch verläuft, sich aber bald einem Gleichgewicht nähert. Ist dieses erreicht, so wird die Reaktion nur dann weiter laufen können, wenn durch Nebenreaktionen das Reaktionsprodukt AB weiter zersetzt wird. Verlaufen diese Nebenreaktionen langsam, so findet auch die obige Reaktion nur langsam statt, was eine niedrige Reaktionskonstante vortäuschen könnte.

Da bei den biologischen Oxydationen aromatische Körper, die als Wasserstofftransporteure fungieren, eine hervorragende Rolle spielen, haben wir die langsam verlaufende Autoxydation des Adrenalins von diesem Standpunkt aus untersucht, in der Hoffnung, für weitere Studien über biologische Oxydationen einige Anhaltspunkte zu gewinnen.

Läßt man Adrenalin bei schwach alkalischer Reaktion an der Luft stehen, so verbraucht es sehr langsam Sauerstoff, wobei primär ein unbekanntes Oxydationsprodukt, wahrscheinlich ein Diketochinon entsteht. Entspricht nun der langsame Gang dieser Reaktion nur der langsamen sekundären Zersetzung des primären Oxydationsprodukts, so müssen wir durch die Beschleunigung dieser sekundären Zersetzung eine Beschleunigung des Sauerstoffverbrauchs erreichen. Setzen wir z. B. zu dem System Adrenalin + O_2 einen Körper C zu, der durch das Chinon oxydiert werden kann, so wird das Chinon zersetzt, wobei wieder Adrenalin entsteht. Das Adrenalin wird in diesem Falle als Katalysator zwischen O_2 und dem zugesetzten Körper C fungieren. Verläuft die Reaktion zwischen dem Chinon und dem zugesetzten Körper C relativ zeitlos, so wird in der Geschwindigkeit des Sauerstoffverbrauchs die wahre Reaktionskonstante der Autoxydation des Adrenalins zutage treten.

Als oxydablen Körper, der durch das Chinon oxydiert werden kann, gebrauchten wir das p-Phenylendiamin. Als Adrenalinlösung gebrauchten wir eine schwach saure Lösung des kristallisierten Adrenalins von *Parke* und *Davis* in einer Verdünnung von 1 : 10000. Die Versuche wurden im Wasserbad von 37° C im am angeführten Orte beschriebenen[1]) doppelten Respirometer ausgeführt, dessen beide Gefäße am Differentialmanometer aneinander geschaltet wurden. In das Hauptgefäß des Respirometers wurden 2 ccm Wasser und 2 ccm 2 proz. frisch zubereitete Diaminlösung eingebracht. Die Adrenalinlösung (1 ccm 1 : 10000) wurde in das Seitengefäß eingebracht und erst in das Hauptgefäß zum Diamin eingelassen, nachdem das ganze System seine Temperaturkonstanz erreicht hat (10 Minuten). In das als Kompensationsgefäß dienende zweite Respirometer wurde dieselbe Menge Wasser und Diamin eingebracht, es wurde aber an Stelle des Adrenalins 1 ccm reines Wasser eingeführt, das dann gleichzeitig mit dem Adrenalin in das Hauptgefäß eingelassen wurde.

Vorstehende Kontrollversuche haben gezeigt, daß reine Diaminlösung Sauerstoff nur in sehr geringen, praktisch zu vernachlässigenden Mengen verbraucht (0,1 cmm in der Minute). Ebenso ist auch der Sauerstoffverbrauch des Adrenalins bei schwach alkalischer Reaktion (reines sekundäres Phosphat) nur gering (0,3 bis 0,5 cmm pro Minute). Wird hingegen das Diamin mit dem Adrenalin an der Luft geschüttelt, so wird ein starker, andauernder Sauerstoffverbrauch von 10 cmm in der Minute beobachtet (Beobachtungsdauer 20 Minuten). Der Sauerstoffverbrauch steigt also durch Mengen der beiden Komponenten auf ungefähr das Zwanzigfache. Bei p_H 7,4 ist der Sauerstoffverbrauch viel schwächer (3 cmm pro Minute), bei p_H 7 ist der Sauerstoffverbrauch bereits sehr gering, 0,5 cmm pro Minute[2]). Daß bei dieser Oxydationskatalyse der Sauerstoff tatsächlich *durch das Adrenalin auf das Diamin* übertragen wird, zeigt die tief violette Farbe des entstehenden Diamins, sowie der Umstand, daß bei der Reaktion viel mehr Sauerstoff verbraucht wird, als zur Oxydation des Adrenalins nötig wäre. Dasselbe beweisen auch die Versuche, in denen die Konzentration der Komponenten variiert wurde. Die Erhöhung der Konzentration des Diamins auf das Doppelte hat praktisch keinen Einfluß auf die Intensität des Sauerstoffverbrauchs. Die Erhöhung der Konzentration des Adrenalins auf das Doppelte bedingt den doppelten Sauerstoffverbrauch.

---

[1]) Diese Zeitschr. 150, 195, 1924.

[2]) In den Versuchen mit p_H 7,4 und 7,0 wurde das Diamin durch Zufügung von HCl erst auf das erwünschte p_H gebracht, und dann an Stelle des Wassers 2 ccm 0,2 mol. $\frac{Na_2HPO_4}{KH_2PO_4}$-Puffer vom entsprechenden p_H zugesetzt.

Wir denken also aus diesen Versuchen ableiten zu können, daß bei der beobachteten Oxydationskatalyse der molekulare Sauerstoff durch das Adrenalin katalytisch auf das Diamin übertragen wird. Aus den Resultaten folgt auch, daß der bei der Autoxydation des reinen Adrenalins beobachtete geringe Sauerstoffverbrauch nicht durch die niedrige Reaktionskonstante bedingt wird, und dieser in der Tat viel höher ist, als der geringe Sauerstoffverbrauch vermuten ließ. Hieraus läßt sich auch folgern, daß es bei dem Studium der biologischen Oxydationen, besonders bei der Messung der Geschwindigkeit der Teilprozesse fehlerhaft wäre, ein unvollkommenes System zu studieren, bei dem die Reaktionsprodukte nicht — ähnlich wie in der Zelle — stets weggeschafft werden.

Wir können, geleitet durch diese Versuche, schwer eine Bemerkung über die Oxydationskatalyse durch die SH-Gruppe unterdrücken. Bekanntlich kann die Sauerstoffaufnahme der Fettsäuren mit mehreren doppelten Bindungen durch die SH-Gruppe katalysiert werden. Diese Katalyse wurde stets so aufgefaßt, daß hier die SH-Gruppe die Oxydation der Fettsäure bzw. der doppelten Bindung katalysiert. Die obigen Versuche lassen an die Möglichkeit denken, daß die Reaktion in umgekehrter Richtung läuft, und die doppelte Bindung im System eine analoge Stelle einnimmt, wie das Adrenalin in den obigen Versuchen. Die leicht oxydable SH-Gruppe würde dem Diamin entsprechen. Einigermaßen für diese Auffassung spricht der Umstand, daß die bis jetzt gebrauchten organischen SH-Verbindungen (Thioglycolsäure, Cystein, Glutathion) durch Thiosulfat ersetzt werden können[1]).

Zusammenfassung.

Adrenalin vermag den molekularen Sauerstoff auf p-Phenylendiamin katalytisch zu übertragen. Es werden einige biologische Konsequenzen dieser Reaktion besprochen.

[1]) Bei diesen Versuchen wurde 1 ccm 10 proz. ätherische Linolensäurelösung in dickes Filtrierpapier gesogen, der Äther in vacuo verdampft, das Papier dann mit einer frischen Mischung von ½ ccm 10 proz. Natriumthiosulfat und ½ ccm 3 proz. HCl befeuchtet und der Sauerstoffverbrauch im Respirometer gemessen.

Quantitative Untersuchungen über die Verwertbarkeit verschiedener Stoffe für die Pflanzenatmung.

Von

G. Klein und **K. Pirschle.**

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 22. Mai 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Nachdem durch die Untersuchungen von *Neuberg* und *Gottschalk*[1]) und *Klein* und *Pirschle*[2]) die zentrale Stellung des Acetaldehyds bei anaerober[3]) und aerober Kohlehydratatmung und von *Pirschle*[4]) bei der Fettveratmung der *Blütenpflanzen* gezeigt war, gingen wir an die nächste Aufgabe, die wir uns gestellt, die Verwertbarkeit von verschiedenen Stoffen für die Atmung an Hand der entstehenden Acetaldehydmengen zu studieren, wie es *Neuberg* und *Gottschalk* schon für die Warmblüterveratmung, *Nagai*[5]) für zwei Bakterienarten teilweise, *Meyerhof*[6]) für Hefeatmung und -gärung durchgeführt[7]). Kann das Warmblütergewebe (Muskulatur und Leber) in Zusammensetzung und Leistung als ziemlich einheitlich angesehen werden, so ist für die höheren Pflanzen schon theoretisch klar, daß die Verwertbarkeit der einzelnen Substanzen in bezug auf Qualität und Quantität bei verschiedenen Arten und Organen und der damit gegebenen verschiedenen chemischen

---

[1]) *C. Neuberg* und *A. Gottschalk*, diese Zeitschr. **151**, 167, 1924; **160**, 256, 1925.

[2]) *G. Klein*, Naturw. **13**, 21, 1925; *G. Klein* und *K. Pirschle*, diese Zeitschr. **168**, 340, 1926.

[3]) *J. Bodnar, Ch. Szepessy* und *J. Ferency*, ebendaselbst **165**, 16, 1925.

[4]) *K. Pirschle*, ebendaselbst **169**, 482, 1926.

[5]) *C. Neuberg* und *A. Gottschalk*, ebendaselbst **146**, 164, 1924.

[6]) *K. Nagai*, ebendaselbst **141**, 261, 266, 1923.

[7]) *O. Meyerhof*, ebendaselbst **162**, 43, 1925.

Zusammensetzung und Fermentausrüstung eine recht verschiedene sein dürfte.

Wir wählten zu den Untersuchungen die stark atmenden Keimlinge. Von diesen müßten natürlich für richtige Vergleiche stärke- (Gramineen), eiweiß- (Leguminosen) und fettreiche Samen (Helianthus) mit allen Stoffen durchgeprüft werden, da klarerweise die Vertreter dieser chemischen Typen auf die einzelnen Köperklassen verschieden anspringen werden, je nachdem ihnen diese aus dem normalen Stoffwechsel geläufig sind oder nicht. Wir begannen die Untersuchungen mit einem Vertreter des Gramineentypus, mit Triticum, der die normale Kohlehydratveratmung am reinsten zeigt.

Da die Arbeit zu einem vorzeitigen Abschluß gebracht werden mußte, konnten Eiweiß- und Fettsamen nicht mehr berücksichtigt werden. Aus diesem Grunde mußten auch Kohlensäurebestimmungen (zur Messung der Atmungsgröße) unterbleiben, die erst, in Verbindung mit den Aldehydbestimmungen ausgeführt, ein deutliches Bild von der Sache gegeben hätten. Methodisch ist es unschwer, diese beiden Bestimmungen nebeneinander in demselben Versuch, in demselben Gefäß auszuführen, indem die Versuchsgefäße zunächst während der Versuchsdauer im Thermostaten an eine Kohlensäureapparatur (Durchsaugen entkohlensäuerter Luft und Absorptionsgefäße dazu) angeschlossen und dann auf Acetaldehyd verarbeitet werden. Derartige ergänzende Bestimmungen müssen auf eine spätere Zeit verschoben werden.

Für solche Versuche mußte aber noch eine Bedingung erfüllt sein, die uns bei der ersten Arbeit schon aufgefallen war, nämlich maximal und gleich stark atmendes Keimlingsmaterial. Dazu mußte wenigstens für unseren Rahmen die Zeit ermittelt werden, bei der maximale Keimlingsatmung vorliegt, und diese konnte ja dann bei den einzelnen Versuchsserien genau eingehalten werden.

Daß ein bestimmtes Organ im Laufe seiner Entwicklung weitgehende Atmungsunterschiede zeigt, ist längst bekannt. In allen Fällen findet man im werdenden Organ eine eingipfelige Atmungskurve mit steilem Aufstieg bis zum Wachstumsmaximum und darauffolgendem steilen Abfall bis zu einem Minimalwert, der, abgesehen von den Blüten, der Atmungswert des ausgewachsenen Organs bleibt.

Für Weizenkeimlinge stellte *Rischavi*[1]) eine ähnliche Kurve (gemessen an der CO_2-Abgabe) fest, die allerdings durch 8 Tage ein ziemlich gleichbleibendes Maximum zeigt (assimilierende Keimlinge). Ähnliche Resultate erhielt *Fernandes*[2]).

---

[1]) *Rischavi*, Versuchsstationen **19**, 321, 1876.
[2]) *Fernandes*, Rec. trav. bot. néerl. **20**, 107, 1923.

Bei uns handelte es sich vorläufig darum, jenes unter gleichen Bedingungen gleichbleibende Keimlingsalter zu bestimmen, bei dem die Aldehydbildung maximal ist.

Die beiden folgenden Versuchsreihen (s. A und B) zeigen eine eindeutige eingipfelige Kurve mit einem scharfen Gipfel am siebten Tage (etiolierte Keimlinge).

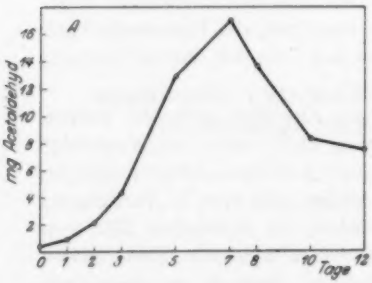


Abb. 1.

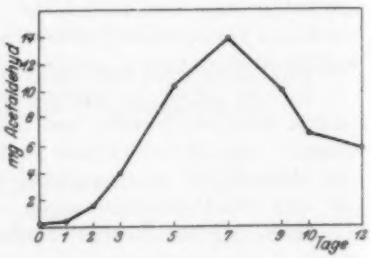


Abb. 2.

Tabelle I.

Werte in Milligrammen Aldehyd pro 10 g Samen. Anzucht bei 27°. Versuch genau 6 Stunden, 31 bis 33°.

	A	B		A	B
Frisch zerrieben . . .	0,40	0,11	7 Tage gequollen .	16,98	13,84
24 Stdn. gequollen . .	0,84	0,35	8 „ „ .	13,62	—
2 Tage „ . .	2,02	1,54	9 „ „ .	—	10,02
3 „ „ . .	4,27	4,00	10 „ „ .	8,29	6,84
5 „ „ . .	12,78	10,21	12 „ „ .	7,52	5,84

Damit war für unsere Weizenkeimlinge unter den gegebenen Bedingungen der Zeitpunkt der maximalen Atmung klar gegeben[1]). Wie weitgehend gleichmäßig unser Versuchsmaterial war, zeigen die abgefangenen Mengen Acetaldehyd in den jeweiligen Kontrollversuchen. Sie schwankten in der engen Grenze von 15 bis 17 mg Aldehyd pro 10 g Samen.

Methodisches.

Die Versuchsanordnung war die gleiche, wie früher angegeben. Gewogene Mengen der Samen wurden gut gewaschen, 18 bis 24 Stunden in

[1]) Eine Durcharbeitung dieser Verhältnisse bei Weizen und anderen Samen soll an anderer Stelle folgen.

Leitungswasser eingequollen, auf einer Nutsche unter dem Strahl der Wasserleitung kräftig durchgespült und in Tonschalen auf feuchtem Filtrierpapier zum Keimen ausgelegt. Die Keimschalen kamen zugedeckt in einen Thermostaten bei 27°, das verdunstete Wasser wurde regelmäßig nachgefüllt. Nach zweitägigem Keimen sind die Würzelchen bereits so fest mit dem Filtrierpapier verfilzt, daß man unter der Wasserleitung kräftig durchschwenken und abspülen kann, wodurch eine bakterielle Infektion fast vollständig vermieden wurde. Nach 7 bis 8 Tagen hatten die Keimlinge eine Größe von 15 bis 17 cm erreicht und konnten zum Versuch verwendet werden; sie atmen nach dieser Zeit unter den angegebenen Bedingungen optimal. Die Keimlinge wurden in Portionen, entsprechend genau 10 g Samen geteilt, d. h. es waren pro Tonschalen 40 g Samen (lufttrocken) ausgelegt worden, wovon pro Gefäß ein Viertel des gesamten Keimlingsgewichts verwendet wurde. Jede Portion wurde nochmals gut gewaschen, grob zerquetscht und in 300 ccm 2proz. Dinatriumsulfit aufgeschwemmt. Die Mengen der zugesetzten, auf ihre Atmungssteigerung zu untersuchenden Substanzen sind in Prozenten von den 300 ccm Sulfit angegeben, ergeben also, mit 3 multipliziert, die Anzahl Gramme, die pro Gefäß bzw. pro 10 g Samen entsprechende Keimlingsmenge zugesetzt wurden. Die zugedeckten, aber nicht luftdicht verschlossenen Versuchsgefäße blieben über Nacht in einem Thermostaten bei 31 bis 34°, Versuchsdauer durchschnittlich 12 bis 16 Stunden. Bezüglich Sterilhalten wäre früher Gesagtes zu wiederholen, eine nennenswerte bakterielle Infektion konnte niemals beobachtet werden.

Auch an der Aufarbeitung brauchte nichts geändert zu werden. Das Pflanzenmazerat wurde grob abgenutscht, mit Quarzsand verrieben, mit einigen Portionen Wasser kurze Zeit digeriert, die vereinigten Filtrate mit Gipspulver geschüttelt, abgegossen und über Calciumcarbonat in n/10 Bisulfit destilliert.

Trotz guter Übereinstimmung der Aldehydwerte (oft bis auf $^1/_{10}$ ccm Jod) — was, da ganz gleich vorbehandeltes Keimlingsmaterial zur Verwendung kam, eigentlich zu erwarten war — wurde nie unterlassen, in jeder Versuchsserie je einen Kontrollversuch in reinem Wasser (zur Ermittlung der zu subtrahierenden Kubikzentimeter Jod, die nicht auf Rechnung von Acetaldehyd zu setzen sind) und je einen Kontrollversuch in Sulfit ohne Zusatz (zur Ermittlung der normalerweise gebildeten Aldehydmenge) anzusetzen. Das ist zwar zeitraubend und macht die Arbeitsweise etwas schleppend, gibt aber die Gewißheit, daß jede Versuchsserie ein in sich abgeschlossenes Ganzes darstellt und die erhaltenen Werte unmittelbar miteinander vergleichbar sind.

Ein solcher Versuch sah etwa derart aus:

5 Proz. Maltose gleich 15 g pro Gefäß. 8 Tage alte Keimlinge. Frischgewicht 65 g, entsprechend 10 g Samen. 18 bis 8½ gleich 14½ Stunden, Thermostat bei 33°.

Wasser . .	0,56	—	—	—	—
Sulfit . . .	6,02	5,46	13,11	—	—
Maltose . .	9,50	8,94	19,67	6,56	d. i. 50,5 Proz.
„ . .	9,39	8,83	19,43	6,32	d. i. 48,6 „

Oder ein anderer:

2 Proz. Propylalkohol gleich 6 g pro Gefäß. 6 Tage alte Keimlinge. Frischgewicht 70 g, entsprechend 10 g Samen. 18¾ bis 8 gleich 13¾ Stunden, Thermostat bei 32°.

Wasser	0,48	—	—	—	—
Sulfit	7,78	7,30	16,06	—	—
Propylalkohol .	11,95	11,47	25,23	9,17	d. i. 57,3 Proz.
„	12,19	11,71	25,76	9,70	d. i. 59,5 „

[Die Ziffern bedeuten wie früher: erste Kolonne: Differenz aus dem Titer der vorgelegten Sulfitlösung minus Kubikzentimeter Jod beim Titrieren nach beendeter Destillation, in Kubikzentimetern n/10 Jod; zweite Kolonne: dieser Jodwert minus der Wasserkontrolle; dritte Kolonne: Milligramm Acetaldehyd, berechnet aus den Kubikzentimetern n/10 Jod der zweiten Kolonne durch Multiplikation mit 2,2; vierte Kolonne: Differenz gegenüber der Sulfitkontrolle in Milligrammen Acetaldehyd; fünfte Kolonne: diese Steigerung der Aldehydmenge (Atmungssteigerung) umgerechnet in Prozente der Sulfitkontrolle.]

Alle diese Zahlen, die kaum interessieren dürften, sind im folgenden fortgelassen und zu jeder Substanz nur die in der angegebenen Konzentration erreichte Atmungssteigerung in Prozenten, also nur die Ziffern der Kolonne V, angegeben. Dadurch reduzieren sich zwar seitenlange Versuchsprotokolle auf wenige Zeilen, die Übersichtlichkeit über das Ganze dürfte aber durch Weglassen alles Überflüssigen nur gewinnen.

Die Zucker und Alkohole wurden als solche, die Säuren als neutrale K-Salze gereicht. Freie Säuren zuzusetzen, erschien untunlich; die ursprüngliche Absicht, die Ca-Salze zu verwenden, wurde bald fallen gelassen, da sie sich mit dem als Abfangmittel verwendeten Natriumsulfit teilweise zu Calciumsulfit umsetzen, das, wie früher auseinandergesetzt wurde, unter den angegebenen Bedingungen weniger gut brauchbar ist und schwankende Werte gibt. Einmal, weil die Umsetzung nicht vollständig ist, von der Natur der Säure abhängt und daher Vergleichswerte unmöglich macht, und dann auch, weil die schwerlöslichen Ca-Salze nur unvollkommen angegriffen werden dürften. Saure Salze zu verwenden (bei den zweibasischen Säuren) bewährte sich gleichfalls nicht. Jedenfalls wären aber diese Verhältnisse bei den organischen Säuren, die auch in der Natur eine bedeutende Rolle spielen, noch näher zu untersuchen und vor allem neben den Kalisalzen auch die Ammonsalze entsprechend zu berücksichtigen.

Die Konzentration betrug bei den Zuckern durchweg 5 Proz., also 15 g pro Gefäß, bei den Alkoholen 2 Proz. (Gewichtsprozente), also 6 g pro Gefäß, nur von Glycerin und Mannit wurden, wie bei den Zuckern selbst, 5 Proz. gegeben, die Salze wurden in 1- bis 2proz. Lösung gereicht. Bei Dioxyaceton mußte bis auf ½ Proz. heruntergegangen werden, Zusatz von 1 Proz. ergab 119,8, Zusatz von 2 Proz. sogar eine Depression von — 33,0 in einem, und von — 22,6 in einem anderen Falle. Inwieweit überhaupt Konzentrationsänderungen eine Rolle spielen, wurde nicht weiter untersucht. Bei Säuren ist es, wie gesagt, gleichgültig, ob man 1 oder 2 Proz. verwendete, bei Glucose erhält man zwischen 2 bis 10 Proz. nur geringe Schwankungen. Jede der untersuchten Substanzen auch daraufhin zu prüfen, hätte die Zahl der Versuche ins Endlose vermehrt, wobei das Ergebnis noch recht problematisch wäre.

Versuchsergebnisse.

Es wurden folgende Substanzen auf ihre atmungssteigernde Wirkung untersucht:

Zucker:			
Glucose	86,6	76,9	
Fructose	59,6	52,6	
Galaktose	78,5	76,0	
Rohrzucker	56,6	52,6	
Malzzucker	50,5	48,6	
Milchzucker	36,0	42,1	
Alkohole:			
Methylalkohol	kein Aldehyd		
Äthylalkohol	121,5	131,6	
Propylalkohol (iso)	57,3	59,5	
Glycerin	67,5	72,0	
Mannit	36,3	33,0	
Säuren:			
Essigsäure	123,7	131,3	
Propionsäure	47,3	49,6	
Milchsäure	30,7	31,0	33,1
Brenztraubensäure	500	550 (quantitativ umgesetzt)	
Oxalsäure	78,2	77,6	
Äpfelsäure	keine Steigerung (4 Vers.)		
Weinsäure	87,8	82,5	
Citronensäure	7,4	11,5	
Aminosäuren:			
Alanin	14,9	13,0	
Asparagin	27,2	28,4	29,5
Sonstiges:			
Dioxyaceton	146,3	184,1	

Andere biologisch wichtige oder in diesem Zusammenhang besonders interessierende Substanzen, wie Glycerinaldehyd, Glykolaldehyd, Methylglyoxal usw., sowie die verschiedenen Aminosäuren, die ein Experimentieren auch mit eiweißreichen Samen (Leguminosen) notwendig gemacht hätten, konnten nicht mehr berücksichtigt werden.

Im einzelnen auf die Versuchsergebnisse näher einzugehen, erübrigt sich eigentlich, da die Zahlen für sich sprechen. Sie sind in Tabelle II, um leichter miteinander verglichen werden zu können, in der Weise zusammengestellt, daß der Reihe nach der Mittelwert der beigefügten Substanz gleich 1 gesetzt ist. Von links nach rechts gelesen, ergeben dann die verschiedenen Kolonnen die entsprechenden Verhältniswerte für die anderen Substanzen (durch Division gefunden). Rechts oben in jedem Feld sind diese Quotienten auf Ganze, Halbe, Drittel usw. abgerundet, wodurch ein

Tabelle II.

	Glucose	Galaktose	Fructose	Rohrzucker	Maizzucker	Milchzucker	Äthylalkohol	Propylalkohol	Glycerin	Mannit	Essigsäure	Propionsäure	Milchsäure	Oxalsäure	Weinsäure	Citronensäure	Alanin	Asparagin	Dioxaceton
	180,1 = 1	180,1 = 1	180,1 = 1	342,2 = 1	342,2 = 1	342,2 = 1	46,04 = 1	60,06 = 1	92,06 = 1	182,1 = 1	60,03 = 1	74,05 = 1	90,05 = 1	90,02 = 1	150,1 = 1	192,1 = 1	89,07 = 1	132,1 = 1	90,05 = 1
Glucose	1	1	1	1	1	1	2/3	1	1 1/2	1	2/3	1 1/2	2	1	1	1/2	2/3	1	1/2
		0,93	0,68	0,67	1,04	0,48	1,47	0,71	0,42	0,85	1,56	0,59	1,04	2,02	0,39	0,35	0,17	0,11	0,95
Galaktose	1 1/3	1	3/4	3/4	3/5	1/2	1 1/2	3/4	1/2	1	1 2/3	2/3	1	2	2/3	1/2	1/5	1/10	1
77,8 = 1	1,32	1	0,71	0,70	0,64	0,50	1,55	0,75	0,45	0,90	1,64	0,62	1,09	2,12	0,41	0,36	0,18	0,12	1,00
Fructose	1 1/2	1 1/3	1	1	1	3/4	2	1	2/3	1 1/4	2 1/4	1	1 1/2	3	3/5	1/2	1/4	1/5	1 1/3
56,1 = 1	1,45	1,39	1	0,97	0,89	0,69	2,15	1,04	0,62	1,24	2,27	0,86	1,51	2,94	0,56	0,51	0,25	0,17	1,39
Rohrzucker	1 1/2	1 1/2	1	1	1	3/4	2 1/4	1	2/3	1 1/4	2 1/3	1	1 1/2	3	3/5	1/2	1/4	1/5	1 1/2
54,6 = 1	1,49	1,43	1,02	1	0,90	0,71	2,21	1,07	0,63	1,28	2,33	0,89	1,59	3,03	0,58	0,52	0,25	0,17	1,43
Maizzucker	1 1/2	1 1/2	1	1	1	3/4	2 1/2	1 1/4	2/3	1 1/2	2 1/2	1	1 2/3	3 1/3	2/3	3/5	1/4	1/5	1 3/5
49,5 = 1	1,61	1,57	1,12	1,09	1	0,78	2,41	1,17	0,68	1,41	2,55	0,98	1,70	3,34	0,64	0,57	0,28	0,19	1,57
Milchzucker	2	2	1 1/2	1 1/2	1 1/4	1	3 1/2	1 1/2	1	1 3/4	3 1/4	1 1/4	2 1/5	4 3/4	4/5	3/4	1/3	1/4	2
39 = 1	2,09	1,99	1,43	1,40	1,27	1	3,69	1,49	0,89	1,79	3,27	1,24	2,19	4,23	0,81	0,73	0,36	0,24	2,00
Äthylalkohol	2/3	2/3	1/2	1/2	2/5	1/3	1	1/2	1/4	3/5	1	1/2	2/3	1 1/3	1/4	1/4	1/10	1/10	2/3
120,5 = 1	0,68	0,65	0,48	0,45	0,41	0,32	1	0,48	0,29	0,58	1,06	0,40	0,70	1,37	0,26	0,24	0,12	0,08	0,65
Propylalkohol	1 2/5	1 1/3	1	1	4/5	2/3	2	1	3/5	1 1/4	2 1/4	4/5	1 1/2	2 4/5	1/2	1/2	1/4	1/10	1 1/3
58,4 = 1	1,40	1,33	0,96	0,93	0,85	0,66	2,06	1	0,58	1,19	2,18	0,83	1,45	2,83	0,54	0,49	0,24	0,13	1,33
Glycerin	2 1/3	2 1/4	1 2/3	1 1/2	1 1/2	1	3 1/2	1 2/3	1	2	3 2/3	1 1/2	2 1/2	4 3/4	1	3/4	2/5	1/4	2 1/4
34,7 = 1	2,36	2,24	1,61	1,58	1,42	1,12	3,47	1,68	1	2,01	3,68	1,40	2,45	4,76	0,91	0,82	0,40	0,27	2,24
Mannit	1 1/4	1 1/10	4/5	2/3	2/3	1/2	1 4/5	4/5	1/2	1	2	2/3	1 1/4	2 1/3	1/2	2/5	1/4	1/10	1 1/10
69,8 = 1	1,17	1,12	0,80	0,77	0,71	0,54	1,87	0,84	0,49	1	1,97	0,69	1,22	2,37	0,45	0,41	0,20	0,13	1,12
Essigsäure	2/3	2/3	2/5	2/5	2/5	1/3	1	1/2	1/4	1/2	1	2/5	2/3	1 1/4	1/4	1/4	1/10	1/10	2/3
127,5 = 1	0,64	0,61	0,44	0,43	0,38	0,30	0,95	0,46	0,27	0,54	1	0,38	0,66	1,29	0,25	0,22	0,11	0,07	0,61
Propionsäure	1 2/3	1 2/3	1 1/4	1 1/10	1	4/5	2 1/2	1 1/4	3/4	1 1/2	2 1/2	1	1 3/4	3 2/5	2/3	3/5	1/3	1/4	1 2/3
48,4 = 1	1,69	1,61	1,16	1,13	1,02	0,80	2,49	1,21	0,72	1,44	2,64	1	1,76	3,41	0,65	0,59	0,29	0,19	1,61
Milchsäure	2 1/2	2 1/2	1 3/4	1 3/4	1 1/2	1 1/4	4	2	1	2 1/4	4	1 1/2	2 2/3	5 1/4	1	1	2/5	1/3	2 1/3
31,6 = 1	2,59	2,46	1,77	1,73	1,57	1,23	3,81	1,85	1,10	2,21	4,04	1,53	2,69	5,22	1	0,90	0,44	0,30	2,47
Oxalsäure	1	1	3/4	3/4	3/5	1/2	1 1/2	3/4	1/2	1	1 3/5	2/3	1	2 1/10	2/5	1/3	1/5	1/10	1
77,9 = 1	1,07	1,00	0,72	0,70	0,64	0,50	1,55	0,75	0,45	0,90	1,63	0,62	1,09	2,12	0,41	0,36	0,18	0,12	1
Weinsäure	1	1	2/3	2/3	3/5	1 1/2	1 1/2	2/3	2/5	4/5	1 1/2	3/5	1	2	1/5	1/3	1/5	1/10	1
85,1 = 1	0,96	0,91	0,66	0,64	0,58	1,46	1,41	0,68	0,41	0,82	1,49	0,57	1	1,94	0,37	0,33	0,16	0,11	0,91
Citronensäure	9	8 1/4	6	6	5 1/4	4	13	6	4	7 1/2	13 1/2	5	9	17 1/2	3 1/2	3	1 1/2	1	8 1/3
9,4 = 1	8,91	8,28	5,97	5,81	5,27	4,15	12,82	6,21	3,78	7,43	13,56	5,15	9,08	17,58	3,37	3,02	1,48	1	8,29
Alanin	6	5 1/2	4	4	3 1/2	3	9	4	2 1/2	5	9	3 1/2	6	12	2 1/3	2	1	2/3	5 1/2
13,9 = 1	5,88	5,60	4,04	3,93	3,57	2,81	8,67	4,20	2,50	5,02	9,18	3,48	6,12	11,89	2,28	2,04	1	0,68	5,59
Asparagin	3	2 3/4	2	2	1 3/4	1 1/3	4 1/4	2	1 1/4	2 1/2	4 1/2	1 3/4	3	6	1	1	1/2	1/3	2 3/4
28,4 = 1	2,88	2,74	1,98	1,92	1,74	1,37	4,25	2,06	1,22	2,46	4,49	1,70	3,00	5,82	1,11	1	0,49	0,33	2,74
Dioxaceton	1/2	1/2	1/3	1/3	1/5	1 1/4	3/4	1/3	1/4	2/5	3/4	1/4	1/3	1	1/4	1/4	1/10	1/20	1/2
165,2 = 1	0,48	0,47	0,34	0,33	0,30	1,24	0,75	0,35	0,21	0,42	0,77	0,29	0,51	1	0,19	0,17	0,08	0,05	0,47

Anisaldehyd wird in engl. Versuchen keine Steigerung. Brenztraubensäure wird quantitativ verarbeitet (500, 550).

Vergleich noch erleichtert wird. Diese Abrundung ist statthaft, denn obwohl die Versuche mit der größtmöglichen Sorgfalt behandelt wurden, ist die physiologische Variationsbreite so groß, daß eine derartige Abrundung nicht ins Gewicht fällt.

Bevor auf die Resultate im einzelnen eingegangen wird, wäre noch zu erwägen, inwieweit die erhaltenen Aldehydwerte überhaupt als Atmungssteigerung aufgefaßt werden dürfen. Gerade die bei Äthylalkohol und Essigsäure erhaltenen, auffallend hohen Werte legen die Vermutung nahe, daß durch enzymatische Vorgänge, Oxydation bzw. Reduktion, eine Bildung von Acetaldehyd aus gewissen Verbindungen erfolgen kann (die CH_3-Gruppe ist hier präformiert), die mit Atmung selbst eigentlich nichts zu tun hat. Parallele Kohlensäurebestimmungen werden ja die Fragen klären; nur wenn Acetaldehyd *und* Kohlensäure eine gleiche Steigerung erfahren, dann wird man unbedingt von einer „Atmungs"steigerung sprechen können.

Ähnliche Resultate mit Äthylalkohol erhielten ja auch *Neuberg* und *Gottschalk* bei Warmblütermuskulatur[1]).

In diesem Zusammenhang muß besonders auf die dismutative Verarbeitung von Alkohol, Acetaldehyd und Essigsäure, die *Neuberg* und *Windisch*[2]) bei der Essigsäuregärung aufgezeigt haben, verwiesen werden. Da auch bei unseren Keimlingen sowohl Äthylalkohol wie Essigsäure über Acetaldehyd geführt werden, scheint die Fähigkeit der Verarbeitung dieser beiden Substanzen bei der spezifischen Leistung der Essigbakterien und der höheren Pflanzen im Prinzip die gleiche zu sein.

Noch eine Möglichkeit wäre zu bedenken. *C. Neuberg*[3]) und andere konnten zeigen, daß zahlreiche Substanzen bei der alkoholischen Gärung und auch bei der Atmung eine bedeutende Steigerung herbeiführen können, gewissermaßen stimulierend wirken. Eine solche Stimulation näher zu untersuchen und durch einige weitere Beispiele zu vermehren, lag nicht in unserer Absicht. Wir glauben nicht, daß unsere Ergebnisse auf eine solche Stimulationswirkung zurückzuführen sind; dazu ordnen sie sich anderweitig gefundenen Werten und der ganzen biologischen Vorstellung, die man von der Atmung hat, zu gut und zwanglos ein. Abzuweisen ist aber der Gedanke nicht, um so mehr als natürliche Atmungsreserven in reichstem Maße zur Verfügung stehen, denn während der Versuchsdauer wird nur der kleinste Teil der Stärke verbraucht. Eine exakte Lösung der Frage wäre nur möglich, wenn man nach beendetem Versuch den unverbrauchten Anteil der zugesetzten Stoffe zurückbestimmen könnte,

---

[1]) *C. Neuberg* und *A. Gottschalk*, l. c.; siehe auch *F. Batelli* und *L. Stern*, diese Zeitschr. **28**, 145, 1910; *J. Parnas*, ebendaselbst **27**, 4, 1910.

[2]) *C. Neuberg* und *Fr. Windisch*, ebendaselbst **166**, 454, 1925.

[3]) *Neuberg* und *Sandberg*, ebendaselbst **121**, 215, 1921; **125**, 202, 1921; **126**, 153, 1921.

ein Unternehmen, das infolge der Natur der verwendeten Substanzen schwer oder unmöglich ist.

Eine noch dazu sehr elegante Methode könnte aber auch diesem Übelstande abhelfen: Würde man mit stärke- bzw. kohlehydratfreien Preßsäften arbeiten und in einem solchen Preßsaft eine Atmungssteigerung dieses oder jenes Stoffes konstatieren, dann fielen alle derartigen Bedenken von selber weg, ohne daß man quantitative Analysen schwer zu bestimmender Substanzen nötig hätte. Das setzt aber voraus, daß Atmung in einem zellfreien Medium möglich ist, anders ausgedrückt, daß die Atmung genau wie die Gärung ein enzymatischer Prozeß ist. Dies abzulehnen, liegt kein Grund vor, wenn auch noch in neuesten Arbeiten die von *Godlewski* betonte unbedingte Notwendigkeit der Mitwirkung der lebenden Zelle festgehalten wird. Trotzdem glauben wir, auf diese Meinung einiges Recht zu haben auf Grund von Versuchen, die allerdings noch einer gründlichen Durcharbeitung bedürften. Erst dann hätte künstlicher Fermentzusatz, die natürlich der Qualität der zugegebenen Stoffe entsprechend gewählt sein müßten, Aussicht auf verwertbare Resultate.

Diskussion der Ergebnisse.

Daß die Zucker, allen voran die Glucose, gut verarbeitet werden, ist weiter nicht merkwürdig, da sie normalerweise das hauptsächliche Atmungsmaterial vorstellen. Auffallen muß die Parallele zwischen Glucose und Galaktose, die wohl durch die nahestehende, strukturchemische Konstitution dieser beiden Verbindungen erklärt wird. Die Fructose, obwohl sie von Gärungsorganismen ungleich besser vergoren wird als die Galaktose, steht hier an dritter Stelle. Schlechter werden Disaccharide verarbeitet, am schlechtesten der Milchzucker, der in der Pflanze auch keine besondere Rolle spielt.

Auffallen muß die Parallele zwischen Äthylalkohol und Essigsäure, auf die schon früher hingewiesen wurde. Um so überraschender war die gleiche Beziehung zwischen Propylalkohol und Propionsäure; merkwürdig sind diese beiden Körper auch dadurch, daß sie, im Gegensatz zu den beiden vorigen, bei anaeroben Atmungsvorgängen (Gärungen) kaum oder nur ausnahmsweise auftretend, hier ganz kräftig verarbeitet werden, kaum schlechter als die Disaccharide und sogar besser als Glycerin. *Sabalitschka*[1]) fand bei Propionaldehyd im Gegensatz zu Form- und Acetaldehyd keine Verwertbarkeit zur Zucker- und Stärkebildung. Daß Methylalkohol die Atmung wie jeden Lebensprozeß vollständig unterbindet, nimmt weiter nicht wunder, da er bekanntermaßen ein heftiges Pflanzengift ist. Von den Dicarbon-

[1]) *Th. Sabalitschka* und *H. Weidling*, Ber. d. chem. Ges. **59**, 650, 1926.

säuren zeigen Oxal- und Weinsäure direkt der Galaktose vergleichbare Steigerung, die strukturell verzweigte Citronensäure nur geringe Erhöhung.

Merkwürdig ist dagegen das antipodische Verhalten von Weinsäure und Äpfelsäure, zwei Verbindungen, die einander strukturchemisch so nahe stehen, die nebeneinander in der Pflanzenzelle vorkommen und von denen trotzdem die eine gut, die andere gar nicht veratmet wird. Die Versuche wurden wegen dieses merkwürdigen Verhaltens mehrere Male wiederholt, immer mit dem gleichen Resultat: Weinsäure eine beträchtliche Steigerung, Äpfelsäure fast genau (innerhalb weniger Prozente, die als Fehlergrenzen erlaubt sind) den Wert der Sulfitkontrolle, also keine Steigerung. Es wird notwendig sein, diese Verhältnisse nochmals genauest durchzuarbeiten, um nicht die Tatsache einfach hinnehmen zu müssen, sondern einen plausiblen Grund dafür zu finden. Es ist unwahrscheinlich, daß die Äpfelsäure nicht verwertet wird, viel wahrscheinlicher, daß sie schnell verarbeitet wird, ihr Abbau aber nicht über Acetaldehyd läuft, da auch *Kostytschew*[1]) in seinen Versuchen über Aminosäurenabbau sie nicht finden kann.

Auffallen muß auch der niedrige Wert der Milchsäure, die beim oxydativen Abbau im Tierkörper eine so wichtige Rolle spielt, in der Pflanze aber anscheinend von untergeordneter Bedeutung ist. Jedenfalls spricht dieser Befund entschieden gegen die (längst überholte) Ansicht, daß Milchsäure ein Zwischenprodukt der Pflanzenatmung ist. Besonders, wenn man damit die auffallend hohen Werte für Dioxyaceton vergleicht, womit aber kein Argument für Dioxyaceton als Zwischenprodukt erbracht werden soll. Unsere Werte sprechen nicht dagegen, was aber noch keine biologischen Beziehungen postuliert, da die rein chemischen Beziehungen zwischen Dioxyaceton und Acetaldehyd auf der Hand liegen.

Von den beiden untersuchten Aminosäuren steigert Alanin wenig, Asparagin erheblicher (bei Triticum). Leguminosen werden sicher ein anderes Verhalten zeigen[2]).

Dagegen springt die wohl quantitative Umsetzung der Brenztraubensäure zu Acetaldehyd ins Auge, die zu erwarten war, seitdem in zahlreichen Samen Carboxylase, das spezifische Ferment der Brenztraubensäurespaltung, gefunden wurde[3]). Wurde die Brenztraubensäure für die Gärungsvorgänge der Mikroorganismen durch ihre rapide und quantitative Verarbeitung und die spezifische Carboxylaseausrüstung

---

[1]) *S. Kostytschew*, Pflanzenatmung, S. 137 bis 138, Berlin 1924.

[2]) Siehe auch *H. A. Spoehr* and *M. McGee*, Carnegie Inst. Publ. **325**, 1923; *K. Mothes*, Planta **1** 1925.

[3]) *Zaleski* und *Marx*, diese Zeitschr. **47**, 184, 1912; **48**, 175, 1913.

als Zwischenstufe der Zuckergärung höchst wahrscheinlich gemacht[1]), so ist dasselbe auch hier für die höhere Pflanze neuerdings bestätigt.

Um die Atmungssteigerung durch die verschiedenen in Betracht kommenden Stoffe bei den verschiedenen Organismen anschaulich zu demonstrieren, seien vergleichsweise die vergleichbaren Werte der einzelnen Autoren nebeneinander gestellt.

Autoren:	*Klein* und *Pirschle*	*Neuberg* und *Gottschalk*	*Meyerhof*	*Nagai*
Substanz	Höhere Pflanze gegen Samenbrei Proz.	Warmblütler gegen Muskelbrei Proz	Hefearten gegen anorg. Lösung Proz.	Bakterien gegen normale Nährlösung in mg pro 100 ccm
Glucose	84	38	850	—
Fructose	56,1	50	770	329, 550
Saccharose	54,6	—	600	240, 270
Galaktose	77,8	—	140	300, 500
Maltose	49,5	—	215	300, 450
Lactose	39	—	—	250, 520
Äthylalkohol	120,5	216	723	—
Glycerin	34,7	15	—	—
Mannit	69,5	—	—	—
Essigsäure	127,5	—	550	—
Milchsäure	31,6	— 67 (— 2)	600	30
Brenztraubensäure	500	—	640	—
Dioxyaceton	165,2	66	175	—
Alanin	13,9	150	—	—

Jedenfalls gibt ein Vergleich in der Verwertbarkeit der einzelnen Stoffe deutliche Parallelen und Unterschiede.

Zusammenfassung.

Im Anschluß an die Erfassung des Aldehyds als Zwischenstufe der Kohlehydratatmung der höheren Pflanze wurde versucht, die Verwertbarkeit einer Reihe der wichtigsten Stoffe für die Atmung zu erkennen.

Die Verwertbarkeit wurde vorläufig an Weizenkeimlingen gleicher und maximaler Atmungsintensität nur auf Grund quantitativer Acetaldehydbestimmungen geprüft.

Die verwendeten Substanzen ergaben folgendes Verhalten:

In der Zuckerreihe steigerten in fallender Reihe: Glucose, Galaktose, Fructose, Saccharose, Maltose, Lactose.

Von den Alkoholen bildet: Äthylalkohol mehr Aldehyd als Glucose, Propylalkohol steigert mehr als Glycerin, Mannit steigert wie die Zucker.

[1]) *T. Nagayama*, diese Zeitschr. **116**, 303, 1921; **123**, 69, 1921; Zusammenstellung bei *C. Neuberg* in Oppenheimers Handb. d. Biochem. **2**, 442, 1924.

Von den Säuren steigert Essigsäure ebenso enorm wie Äthylalkohol, Propionsäure wie Propylalkohol, Milchsäure auffallend wenig.

Wie Galaktose steigern Oxalsäure und Weinsäure, Citronensäure minimal, Äpfelsäure nicht, Brenztraubensäure wird quantitativ zu Acetaldehyd umgesetzt.

Von den Aminosäuren steigert Alanin auffallend wenig, Asparagin mehr.

Dioxyaceton erhöht um das $1\frac{1}{2}$fache des Glucosewertes.

Wieweit die Aldehydwerte Atmungssteigerung anzeigen, können nur vergleichende CO_2-Bestimmungen erweisen.

Zwei verbesserte Apparate zur Mikrostickstoffbestimmung.

Von

Hans J. Fuchs.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Breslau, chemische Abteilung.)

(Eingegangen am 14. Juni 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die von *Ivar Bang* zur N-Bestimmung angegebene Mikrokjeldahlapparatur hat sich trotz sorgfältigster Manipulationen als nicht genügend zur Bestimmung sehr kleiner Stickstoffmengen erwiesen.

Erst eine mehrfache Verbesserung hat dazu geführt, die Höchstfehlergrenze der N-Bestimmung bis zu $^{7}/_{1000}$ mg N herunterzudrücken und gleichzeitig ohne dauernde Beobachtung so sicher arbeiten zu können, daß man nebeneinander bequem vier und mehr Apparaturen arbeiten lassen kann.

Die Hauptbedingung, das Ammoniak aus dem in der Schwefelsäure nach Verbrennung der zu untersuchenden Substanz enthaltenen Ammonsulfat in geschlossener Apparatur so in Freiheit zu setzen, daß dabei entstehendes Ammoniak schon die in der Vorlage befindliche Flüssigkeit durchstreichen muß, ist in der einfachsten Weise technisch bequem erfüllt worden. Das Jenaer Geräteglas von *Schott* und Gen., Jena, hat sich neben fast unbegrenzter Lebensdauer und geringer Hitzeempfindlichkeit — was Alkaliabgabe beim Destillieren betrifft — bei entsprechender Behandlung als fehlerfrei erwiesen. Die von *Bang* angegebenen Gummistopfenverbindungen sind ebenfalls in Fortfall gekommen, d. h. sie sind durch eine viel bessere Schlauchverbindung und durch einen vollkommen sicheren Schliff ersetzt.

Die Apparatur besteht aus dem 150 ccm fassenden Mikrokjeldahlkolben aus Jenaer Geräteglas, der an der Halsöffnung mit einem Normalschliff versehen ist. Dieser Normalschliff ist bei allen in Gebrauch befindlichen Kolben der gleiche, so daß bei mehreren Destillationsapparaturen jeder Kolben an jede Apparatur paßt. Außerdem passen in diese Normalschliffe der Kolben entsprechend große geschliffene Glasstopfen zum gasdichten Verschließen der Kolben.

Das Steigrohr der Destillationsarmatur trägt am unteren Ende den zu allen Kolbenschliffen passenden Normalgegenschliff, der sich nach oben in eine kugelförmige Auftreibung fortsetzt. An seinem

unteren Rande ist nach innen eine kleine Glaszunge angeschmolzen, deren Ende in der Mitte der freien Öffnung schräg nach unten liegt.

An die oben genannte Auftreibung ist ein nach oben sanft gebogenes Rohr angesetzt, das — durch einen Glashahn unterbrochen — sich in ein senkrecht nach oben zeigendes zylindrisches Gefäß von etwa 80 ccm Inhalt fortsetzt. Dieses Gefäß dient zur Aufnahme von sechsmal 12 ccm 40proz. Kalilauge und ist durch Graduierung in sechs Abschnitte geteilt.

Von der Auftreibung setzt sich das Destillationsrohr nach oben in der Anfangsstärke bis zu einer stumpfwinkligen Biegung fort, geht in dieser Stärke noch eine kurze Strecke hinter dem stumpfen Winkel weiter und endigt in einem verengten, mit mehreren Oliven versehenen kurzen Stück. Dieses ist durch ein ziemlich lang darübergezogenes Stück starkwandigen Gummischlauches mit dem in gleicher Richtung schräg nach oben weitergehenden Anfangsteil des Kondensationsrohres gelenkig verbunden. Das Kondensationsrohr biegt kurz hinter der Gummiverbindung spitzwinklig in senkrecht nach unten führender Richtung um und ist auf sehr lange Strecke mit einem durch Gummischlauchstücke wasserdicht befestigten Kühlmantel umgeben. Außer dem Kühlmantel besteht die ganze Apparatur aus Jenaer Geräteglas, als Vorlage dient ein ebenfalls aus Geräteglas bestehender Erlenmeyerkolben.

Zum Gebrauch wird die auf Stickstoffgehalt zu untersuchende Substanz in einer dem Mikrokjeldahl entsprechend geringen Menge in den Kolben eingebracht, dazu 1,5 ccm N-freie Schwefelsäure samt einer Messerspitze Kaliumsulfat und einem Kriställchen Kupfersulfat. Nach erfolgter ausreichender Verbrennung kommen in den Kolben eine halbe Messerspitze Talkum und etwa 20 ccm Aqua dest., wobei man etwa am Schliff hängendes Talkum in den Kolben hineinspült. In dieser Verfassung wird der Kolben an die vorher 10 Minuten mit Aqua dest.-Dampf durchgereinigte Destillationsarmatur angeschlossen, wobei vorher noch der Schliff mit etwas Glycerin befeuchtet worden ist. Darauf wird die Vorlage mit einem bestimmten Quantum n/200 Schwefelsäure beschickt und so angebracht, daß das untere Ende des Kondensationsrohres sich in der Vorlageflüssigkeit befindet. Gleichzeitig beschickt man nach Schließung des Hahnes das zylindrische Gefäß am Destillationsrohr mit Kalilauge (40proz.), entzündet die Flamme unter dem Kolben und läßt durch Öffnen des Hahnes einen Teilstrich = 12 ccm in den Kolben fließen. Die verdrängte Luft samt frei gewordenem Ammoniak durchstreicht dabei die vorgelegte Schwefelsäure. Nachdem man sich vergewissert hat, daß das Kühlwasser genügend zirkuliert, läßt man mit starker Flamme ab Dunkelwerden des Kolbeninhalts 3 Minuten destillieren, senkt sodann die Vorlage, spritzt das Ende des Kondensationsrohres mit Aqua dest. gründlich in die Vorlage hinein ab und läßt weitere 3 Minuten überdestillieren. Dann

dreht man die Flamme ab, nimmt die Vorlage fort, löst durch leichte Drehung den Kolben vom Schliff und kann titrieren.

Bei einiger Übung kann man ohne Gefahr des Zurückschlagens bequem vier Apparate zu gleicher Zeit arbeiten lassen, zumal auch das

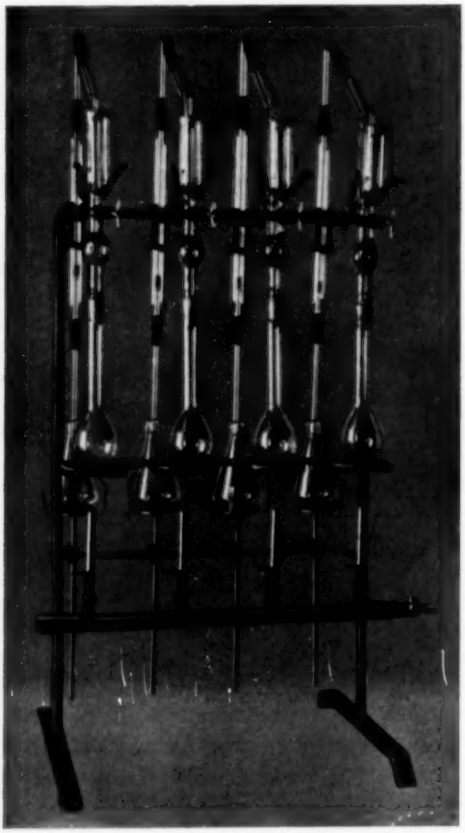


Abb. 1.

dazu konstruierte Gestell sicher und einfach alle Handgriffe ermöglicht. Bei genauem Pipettieren bzw. Abwiegen liegt die Höchstgrenze des Fehlers bei exakter jodometrischer Titration bei $^{3}/_{100}$ ccm n/200 Natriumthiosulfat. Wenn ich also den sicherheitshalber *verdreifachten* Höchstfehler von $^{7}/_{1000}$ mg N angebe, dann zeigt das erst, wie exakt diese Apparatur arbeitet.

Daß außerdem mit dem gleichen Apparat mit entsprechend anderen Reagentien Mikromilchsäure-, Aceton- und Acetessigsäurebestimmungen in gleich exakter Weise angestellt werden können, ist ein sehr zu beachtender weiterer Vorteil. Zum Zwecke der Milchsäurebestimmung

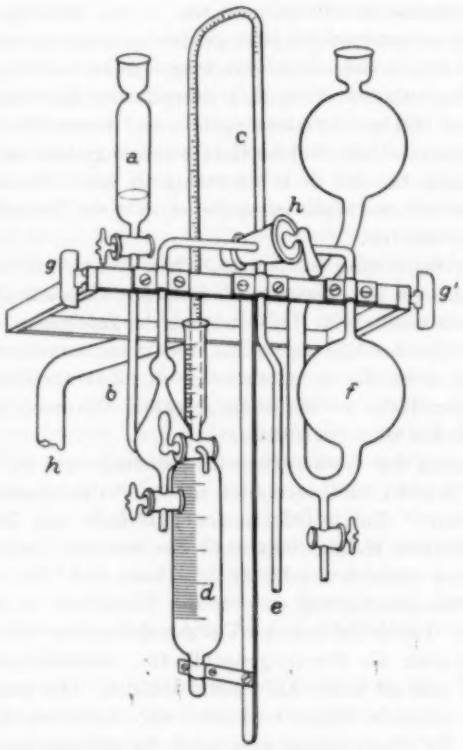


Abb. 2.

a Einlaufbürette
b Schüttelgefäß
c Zur Gasbürette führendes Rohr
d Gasbürette
e Auslaufrohr
f Stempelbürette für Permanganatlösung
g—g' Drehachse
h Haupthahn

dient die am Steigrohrschliff befindliche Glaszunge, die bei entsprechender Stellung des Hahnes aus dem zylindrischen Zulaufgefäß Permanganatlösung in den Kolben eintropfen läßt. In dem Apparaturgestell sind die die Vorlage haltenden Federn auseinanderziehbar, so daß sie eine Kristallisationsschale fassen können, in die mit Eiskältemischung umgeben der als Vorlage dienende Erlenmeyerkolben hineingestellt wird.

Außerdem werden dazu Kjeldahlkolben von gleicher Länge mit gleichem Schliff, aber größerem Fassungsvermögen hergestellt.

Die alleinige Herstellerin dieser gesetzlich geschützten Apparatur ist die Glasbläserei von *Alois Schmidt*, Breslau, Schuhbrücke 42.

Um bei der Apparatur von *Donald D. van Slyke* die Hauptfehlerquellen — Gummischlauchverbindungen — zu beseitigen, habe ich den von ihm konstruierten Schüttelapparat so weit verbessert, daß er nicht nur keine Gummischlauchverbindungen mehr besitzt, sondern daß auch die am Originalapparat ziemlich komplizierte Kombination zweier Hähne in einen einzigen zusammengefaßt ist, dessen Stellung auf den ersten Blick erkennen läßt, welche Gefäße miteinander verbunden sind.

Der Vorgang bei der N-Bestimmung in einer Substanz ist der gleiche wie der von *van Slyke* angegebene. Nur die Technik hat einige Veränderungen erlitten.

Zwecks Fertigstellung des Apparats zum Versuch füllt man zuerst die Gasbürette ganz mit Wasser und läßt den Überschuß in die Permanganatbürette einfließen. Da — wie aus der Zeichnung ersichtlich — der einseitige Griff des Vierwegehahns stets genau zwischen den beiden Kapillarröhren steht, die er miteinander zur Zeit verbindet, hätte in diesem Falle der Hahn — bei allen Angaben von vorn gesehen!! — nach schräg rechts oben zu stehen.

Nach Füllung der Gasbürette wird der Hahn um 90° nach rechts schräg unten gedreht und verbindet so die Permanganatbürette mit dem Auslaufrohr. Durch Öffnen des unterhalb der Permanganatbürette befindlichen Hahnes läßt man das aus der Gasbürette übergelaufene Wasser auslaufen, schließt den Hahn und füllt von oben die alkalische Permanganatlösung ein, bis die Flüssigkeit in das Auslaufrohr überfließt. Durch Drehen des Vierwegehahns um weitere 90° nach rechts schließt man die Permanganatbürette, nachdem man sich vergewissert hat, daß sie keine Luft mehr enthält. Der nun nach links schräg unten zeigende Hahn verbindet das Schüttelgefäß mit dem Auslaufrohr. In dieses bringt man jetzt die entsprechenden Mengen Natriumnitrosumlösung und Eisessig, dreht sodann den Vierwegehahn um 45° nach rechts, so daß er mit dem vom Schüttelgefäß kommenden Kapillarrohr parallel steht. Ich betone besonders, daß der Hahn in jeder der vier parallel zu den zu ihm führenden vier Kapillarrohren möglichen Stellungen alle vier Rohre gasdicht verschließt!!

Das Schüttelgefäß, aus dem jetzt genau nach *van Slykes* Vorschrift mit mehrmaliger Gasentwicklung die gesamte Luft ausgetrieben wird, ist nicht zylindrisch, sondern birnenförmig ausgebildet, um eine größere Schüttelfläche zu haben.

Sodann läßt man aus der kleinen Bürette — wie vorgeschrieben — die zu untersuchende Flüssigkeit quantitativ in das Schüttelgefäß

einlaufen, nachdem man den Vierwegehahn aus seiner letzten, dem vom Schüttelgefäß kommenden Kapillarrohr parallelen Stellung um 45° nach rechts gedreht hat, so daß nach *vorheriger* Schaffung von Unterdruck in der Gasbürette sich dieser Unterdruck auch dem Schüttelgefäß mitteilt. Dann wird nach Vorschrift geschüttelt. Hat sich dabei die Gasbürette drei Viertel mit Gas gefüllt, so unterbricht man die Bewegung des Apparats, schließt alle Verbindungen durch Drehung des Vierwegehahns um 45° nach rechts, so daß er jetzt parallel dem zur Gasbürette führenden Kapillarrohr steht, erzeugt in der Gasbürette Überdruck, dreht darauf den Hahn wiederum um 45° nach rechts und treibt auf diese Art das Gas aus der Bürette in das Permanganat hinüber. Sodann dreht man den Hahn um 45° nach links, erzeugt in der Gasbürette wiederum Unterdruck, dreht den Hahn nochmals um 45° nach links und schüttelt weiter. Während sich nun beim Schütteln im Schüttelgefäß weiter Gas entwickelt und in die Gasbürette hinübergesaugt wird, wird gleichzeitig im Permanganat das Stickoxyd resorbiert. Diesen eben beschriebenen Akt wiederholt man sooft wie nötig bis zum Abschluß der Gasentwicklung. Nachdem man in gleicher Art wie beschrieben alles Gas in das Permanganat getrieben und dort vorschriftsgemäß auch die letzte Gasentwicklung zwecks Resorption des Stickoxyds geschüttelt hat, wobei der Hahn parallel dem zum Permanganat führenden Kapillarrohr gestanden hat, erzeugt man in der Gasbürette wieder Unterdruck, dreht den Hahn vorsichtig nach links und treibt das über dem Permanganat befindliche Gas in die Bürette. Da bei dieser der Nullpunkt vor Beginn der nach hinten-unten führenden Krümmung liegt, läßt man das Permanganat langsam bis zum Nullpunkt steigen und schließt sodann den Hahn durch Drehung um 45° nach rechts. Die Ablesung erfolgt wie in der Gasbürette des Originalapparats *van Slyke*.

Zur Kontrolle für vollständige Freisetzung des Stickstoffs im Schüttelgefäß treibt man dann aus der Gasbürette nach entsprechender Druckerhöhung den Stickstoff ins Permanganat zurück und von dort durch entsprechende Drehung des Hahnes durch das Auslaufrohr hinaus, schüttelt nochmals nach Verbindung des Schüttelgefäßes mit der unter Unterdruck stehenden Gasbürette, treibt genau so das entwickelte Gas in das Permanganat und von dort in die Gasbürette zurück.

Der Apparat, der bei Verwendung geeigneter Chemikalien und einiger Übung einfacher zu bedienen ist als die Originalkonstruktion, schaltet durch Fortfall aller elastischen Verbindungen jede Fehlermöglichkeit aus.

Die alleinige Herstellerin dieser gesetzlich geschützten Apparatur ist die Glasbläserei von Alois Schmidt, Breslau, Schuhbrücke 42.

Die physiologische Funktion des Jods beim Bau- und Betriebsstoffwechsel in der chlorophyllhaltigen und chlorophyllosen Zelle.

Von

Julius Stoklasa.

Unter Mitwirkung von *Dvořák, Bareš, Štrupl.*

(Aus den staatlichen Versuchsstationen an der tschechischen technischen Hochschule in Prag.)

(Eingegangen am 19. Juni 1926.)

Je mehr wir unsere Kenntnisse über den Chemismus der Pflanzenzelle vertiefen, um so klarer zeigt es sich, daß neben den nie fehlenden 13 biogenen Elementen wie Wasserstoff, Sauerstoff, Kohlenstoff, Stickstoff, Schwefel, Chlor, Phosphor, Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen und Aluminium noch acht andere Elemente, und zwar Selen, Arsen, Jod, Brom, Fluor, Silicium, Mangan und namentlich Radium[1]) eine wichtige physiologische Rolle im Organismus spielen.

Bei unseren Studien über die Funktion des Jods, Broms und Fluors konnten wir konstatieren, daß besonders das Jod in hervorragender Weise an dem Bau- und Betriebsstoffwechsel in der Pflanzenzelle beteiligt ist.

---

[1]) Bezüglich meiner Studien über die physiologische Funktion des Schwefels, Selens, Arsens, Phosphors, Kaliums, Eisens und Aluminiums verweise ich auf nachstehende Arbeiten: Biochemischer Kreislauf des Phosphations im Boden, Jena, Verlag Fischer, 1911; Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung des Chlorophylls. Beihefte zum Bot. Centralblatt, Bd. XXX, Abt. 1, H. 2. Physiologische Bedeutung des Kaliumions im Organismus der Zuckerrübe, Jena, Verlag Fischer, 1916; Über die Verbreitung des Aluminiums in der Natur und seine Bedeutung beim Bau- und Betriebsstoffwechsel der Pflanzen, Jena, Verlag Fischer, 1922; Die Beschädigungen der Vegetation durch Rauchgase und Fabrikexhalationen, Berlin-Wien, Verlag Urban & Schwarzenberg, 1923 (diese Arbeit ist eigentlich eine Monographie der Biologie des Schwefels und Selens); Über die physiologische Bedeutung des Arsens im Pflanzenorganismus. Zeitschr. f. landw. Versuchswesen in Österreich 1898. Meine zahlreichen Arbeiten über die physiologische Wirkung des Radiums sind in meinem neuesten Buche: „Handbuch der biophysikalischen und biochemischen Durchforschung des Bodens", Berlin, Verlag Paul Parey, nachzulesen.

Auf diese Tatsache habe ich bereits im Jahre 1924 in meiner Arbeit „De la fonction physiologique de l'iode dans l'organisme de la betterave a sucre" (Comptes rendus des séances de l'Academie des Sciences **178**, 120, 2. Januar 1924) hingewiesen.

Chatin war der erste, welcher das Jod mit voller Bestimmtheit im Pflanzenorganismus nachgewiesen hat. Seine Entdeckung wurde durch die Untersuchungen von *Bourcet*, *Winterstein*, *J. Hendrik* und *A. Gauthier* bestätigt. Namentlich *Bourcet* hat darauf hingewiesen, daß die Chenopodien und Liliaceen viel mehr Jod absorbieren als die Solaneen und Umbelliferen.

Vor 3 Jahren publizierte *Theodor von Fellenberg*[1]) gründliche und ausführliche Arbeiten über das Vorkommen von Jod in der Natur, in welchen er gleichzeitig dokumentierte, wie das Jod in der Natur verbreitet ist. *Fellenberg* bestätigte die Angaben früherer Forscher, daß die Meeres- und Süßwasserpflanzen mehr Jod enthalten als die Landpflanzen. Die Meerespflanzen haben natürlich den größten Jodgehalt. *Fellenberg* hat auch eine ausgezeichnete Methode zur Jodbestimmung in den Pflanzenorganen ausgearbeitet, welche wir nachprüften und in letzter Zeit stets für unsere Untersuchungen in Anwendung brachten.

Das Jod ist im Pflanzenreiche ungemein verbreitet, und zwar enthalten nicht nur die Halophyten Jod, sondern auch die Hygrophilen, Hydrophyten, Mesophyten und sogar auch die Xerophyten besitzen Jod in ihrem Organismus. Wir haben bei unseren Untersuchungen die größten Quantitäten Jod im Organismus der Halophyten und Hygrophilen konstatieren können. Auf Grund unserer Experimente wurde festgestellt, daß das Jod in Form von Jodiden von den Pflanzen resorbiert werden kann, und zwar vermittelst des Wurzelsystems der Pflanze aus dem Boden oder aus der Nährlösung, und weiter wird das aus dem Boden oder der Nährlösung entweichende elementare Jod in sehr schwachen Konzentrationen in der Luft von den Chlorophyllapparaten der Pflanze assimiliert.

Der Acker- und Waldboden enthält stets Jod. Doch variiert der Jodgehalt ungemein, und zwar ist er von dem Muttergestein, aus welchem der Boden stammt, abhängig. Wir konnten konstatieren, daß die aus dem Silur- und Devonschiefer stammenden Böden in der Umgebung von Prag sehr jodarm sind. Sie enthalten pro 1 kg Trockensubstanz durchschnittlich 110 bis 260 γ Jod (γ = 0,001 mg). Die aus der Kreide- und Tertiärformation hervorgegangenen Böden sind bereits jodreicher, sie enthalten pro 1 kg Trockensubstanz 330 bis 420 γ Jod. Ziemlich bedeutende Quantitäten Jod finden sich in Basalt-, Phonolith- und Melaphyrböden. Wir konstatierten pro 1 kg Trockensubstanz 650 bis 720 γ Jod. Die an Jod reichsten Böden sind entschieden die Torf- und Moorböden. Sie enthalten pro 1 kg Trockensubstanz 1200 bis 1500 γ Jod. Dies ist dadurch zu erklären, daß die Torfbildner wie Sphagnum cymbifolium, Sphagnum acutifolium und Sphagnum cuspidatum verhältnismäßig reich an Jod sind. Diese Sphagnum-Arten enthalten pro 1 kg Trockensubstanz durchschnittlich 4800 γ Jod.

Nähere Angaben über den Jodgehalt der Böden finden wir außer bei *Fellenberg* in neuester Zeit auch bei *Bleyer*[2]).

---

[1]) *Th. v. Fellenberg*, diese Zeitschr. **139**, H. 4/6, 1923; **152**, H. 1/2, 1924; **142**, H. 3/4, 1923; **160**, H. 1/3, 1925.

[2]) *Bleyer*, diese Zeitschr. **170**, H. 4/6, 1926.

Schon *Fellenberg* hat gezeigt, daß Erden und Gesteine aus zugesetzten Alkalijodiden elementares Jod abspalten. Er ist der Ansicht, daß diese Reaktion weder durch Bakterien noch durch organische Enzyme bedingt ist, sondern durch die anorganischen Katalysatoren. Sie ist an die Gegenwart von Luftsauerstoff gebunden.

Dieser Anschauung *Fellenbergs* kann ich nicht vollständig zustimmen, denn wir fanden, daß, wenn der Boden reich an Bakterien ist, oder wenn der Boden mit Pferdeexkrementen, welche große Mengen thermophiler Bakterien enthalten, gedüngt wurde, die Temperatur des Bodens infolge der intensiven Atmung der Bakterien steigt — und zwar kann sie bis 45° C erreichen —, und daß hierbei verhältnismäßig größere Quantitäten elementares Jod entweichen. Das Jod entweicht, wenn dem Boden Kaliumjodid oder Natriumjodid zugesetzt worden ist, in so großen Mengen, daß sogar ein schädlicher Einfluß auf die Chlorophyllorgane ausgeübt wird. Die physiologische Ionenwirkung des Jods auf die verschiedenen Pflanzen ist nicht gleich, es ist auch die Aufnahme des Jodions durch das Wurzelsystem der Pflanzen verschieden.

Sind in einer Nährlösung 0,005 g Jod in Form von Kaliumjodid pro 1 Liter enthalten, so wirken dieselben auf gewisse Gramineen bereits nach 22 Tagen giftig. Papilionaceaen aber haben diese Konzentration 45 Tage vertragen. Den Hydrophyten und Hygrophilen hat eine Konzentration von 0,006 g Jod gar nicht geschadet. Sphagnum cymbifolium, Phragmites communis, Carex riparia, Symphitum officinale, Caltha palustris haben in der Nährlösung sehr gut vegetiert, und es waren keine giftigen Symptome nachweisbar. Dagegen sind die Xerophyten gegen Jod sehr empfindlich, weniger die Mesophyten. Noch größere Quantitäten Jod vertragen namentlich die Halophyten (Flora der Meeresküste), zu denen Beta maritima, die Mutterpflanze unserer Beta vulgaris, gehört.

Es sind dies von den Gramineen: Ammophila arenaria, Elymus arenarius, Triticum junceum, Phragmites communis, Hordeum arenarium, Hordeum maritimum, Scirpus parvulus; von den Chenopodiacaeen: Atriplex litorale, Suaeda maritima; von den Cruciferae: Cakile maritime; von den Primulaceae: Glaux maritima; von den Polygonaceae: Rumex maritimus.

Die Vegetationsversuche, welche wir mit den verschiedenen Halophyten, Hydrophyten und Hygrophilen ausgeführt haben, zeigen uns, daß das Jod namentlich von den Halophyten, und zwar vermittelst des Wurzelsystems und der Chlorophyllapparate, in größerer Menge absorbiert wird und die Entwicklung der Pflanzen günstig beeinflußt. Auch bei einigen Hydrophyten und Hygrophilen konnten wir dies konstatieren, und zwar besonders bei Sphagnum cymbifolium, Aspidium Filix mas., Equisetum arvense, Lycopodium clavatum, Rumex acetosella, Ranunculus fluitans und Pulmonaria officinalis. Die zu unseren Versuchen verwendeten Halophyten stammten von der Küstenflora von Helgoland, Scheveningen, Ostende, Zoppot, aus der Umgebung von St. Nazaire (bei Nantes), Monte Carlo, Mentone, Rimini, Neapel, Triest, Abbazzia usw., und es wurden viele Versuche auch an Ort und Stelle vorgenommen.

Wir fanden bei unseren Vegetationsversuchen, daß 0,021 g Jod in Form von Kaliumjodid zu 12 kg Boden zugesetzt bereits einen günstigen

Einfluß auf die Entwicklung der Halophyten ausüben, und zwar zeigte sich dies besonders bei Ammophila arenaria, Hordeum arenarium, Hordeum maritimum, Beta maritima sowie bei Lathyrus maritimus, Rumex maritimus. Der Ertrag wurde um 45 bis 96 Proz. erhöht.

Wir konstatierten bei unseren Vegetationsversuchen, daß sich die Keimlinge dieser Pflanzen, deren Samen ich selbst gesammelt habe, in einem vollkommen jodfreien Nährmedium sehr schlecht entwickeln, so daß wir den Eindruck gewannen, daß bei diesen Pflanzen das Jod einen unentbehrlichen Faktor für den Aufbau neuer lebender Pflanzenmasse darstellt.

Weiter führten wir die Versuche auch mit Hydrophyten aus, und zwar mit Sphagnum cymbifolium, Aspidium Filix mas., Rumex acetosella, Ranunculus fluitans, Pulmonaria officinalis, Symphytum officinale. Die Erträge wurden ebenfalls um 23 bis 120 Proz. erhöht. Der Boden, welchen wir zu diesen Versuchen verwendeten, enthielt 272 γ Jod pro 1 kg Trockensubstanz. *Bei Zusatz von 0,021 γ Jod zu 9,5 kg Boden wurde eine günstige Wirkung konstatiert. Bei Zusatz von 0,08 g Jod jedoch zeigte sich bereits ein toxischer Einfluß.*

Ich führe im nachstehenden die Resultate unserer Versuche mit *Aspidium Filix mas.* an. Man erntete pro 10 Vegetationsgefäße umgerechnet auf Trockensubstanz: Ohne Zusatz von Jod 178 g; bei Zusatz von Jod 394 g.

Der Jodgehalt der ganzen Pflanzenmasse betrug pro 1 kg Trockensubstanz (in Gamma = 0,001 mg Jod): Pflanzenmasse aus ungedüngtem Boden 180 γ Jod; Pflanzenmasse aus mit Jod gedüngtem Boden 1300 γ Jod.

In wie großen Quantitäten das Jod von gewissen Hydrophyten aus Wasserkulturen aufgenommen wird, zeigen unsere Vegetationsversuche mit *Hemerocallis fulva*. Es wurden 40 Vegetationsgefäße in fünf Gruppen geteilt und einer jeden Gruppe eine bestimmte Menge Jod in Form von Jodkalium zugesetzt. Der Versuch dauerte 116 Tage. Jedes Vegetationsgefäß enthielt 3200 ccm Nährlösung. Die Resultate sind in nachstehender Tabelle anschaulich zusammengestellt:

Zusatz von Jod in Form von Jodkalium pro 3200 ccm Nährlösung	Gewicht der geernteten Pflanzenmasse		Jodgehalt der Pflanzenmasse pro kg Trockensubstanz
	Frisch	Trockensubstanz	
g	g	g	γ
0	137,5	19,875	420
0,009	287,5	41,625	2800
0,015	237,5	34,437	2900
0,021	100	15	3400
0,03	68,75	9,875	3400

Wir sehen, daß bereits die Quantitäten von 0,021 g Jod und 0,03 g Jod, zu 3200 ccm Nährlösung zugesetzt, schädliche Wirkungen hervorgerufen haben. Die Jodmenge ist in den Pflanzen stark gestiegen.

Interessant sind die Versuche mit der *Zuckerrübe* (Beta vulgaris). Wir führten dieselben im Vegetations- und Glashause aus und erhielten pro 10 Vegetationsgefäße durchschnittlich nachstehende Erträge:

	Ohne Joddüngung	Bei Düngung mit 0,021 g Jod pro Vegetationsgefäß*)
Blätter . . . . . g	2066	2246
Wurzeln . . . . . g	1390	1989
Zuckergehalt . . Proz.	17,1	17,3

*) 12 kg Erde mit einem Gehalt von 272 γ Jod pro kg Trockensubstanz.

Aus diesen Ergebnissen sehen wir, daß das Jod einen günstigen Einfluß auf die Bildung neuer lebender Masse der Zuckerrübe ausgeübt hat. Wir konnten sowohl in den Wurzeln als auch in den Blättern Jod konstatieren, und zwar betrug der Jodgehalt der Produkte pro 1 kg Trockensubstanz (wir geben die Werte in Gamma = 0,001 mg an):

	Ohne Joddüngung	Mit Joddüngung
Blätter . . . γ Jod	320	900
Wurzeln . . γ „	150	600

Diese Zahlen zeigen, daß die Blätter und Wurzeln der mit Jod gedüngten Pflanzen einen größeren Jodgehalt aufweisen.

Wir wiederholten die Versuche im großen auf unserem Versuchsfeld, und zwar düngten wir den Boden pro 1 ha mit 60 kg Stickstoff in Form von Chilesalpeter, 50 kg Phosphorsäure in Form von Superphosphat, 80 kg Kaliumchlorid. Fünf Parzellen wurden außerdem pro 1 ha 1,72 kg Jod in Form von Kaliumjodid zugesetzt. Die anderen fünf Parzellen blieben ohne Joddüngung.

Die Resultate waren durchschnittlich pro 1 ha nachstehende:

	Ohne Joddüngung	Mit Joddüngung
Blätter . . . . . γ	374	405
Wurzeln . . . . . γ	333	413
Zuckergehalt . . . . . Proz.	16,6	16,4

Der Jodgehalt der geernteten Pflanzenmasse betrug durchschnittlich pro 1 kg Trockensubstanz:

	Ohne Joddüngung	Mit Joddüngung
Blätter . . . . . γ Jod	280	1080
Wurzeln . . . . . γ „	188	423

Diese Versuche beweisen neuerlich, daß das Jod auf die Bildung neuer lebender Masse der Zuckerrübe sehr günstig eingewirkt hat, und

zwar wurde ein durchschnittlicher Mehrertrag an Zuckerrübe von 80 γ pro 1 ha erzielt.

Es führten uns diese Experimente zu der Anschauung, daß das Jod eine gewisse physiologische Funktion im Organismus der Zuckerrübe besitzt, nachdem, wie bekannt, die Zuckerrübe ihre Abstammung von der Beta maritima herleitet, und wie ich mich überzeugt habe, enthält die Beta maritima stets größere Quantitäten Jod. Und zwar beträgt der Jodgehalt der Beta maritima, wie wir gefunden haben, durchschnittlich pro 1 kg Trockensubstanz:

Blätter	3488 γ Jod
Wurzeln	1094 γ „

Wir haben es jetzt in der Hand, die Erträge unserer Zuckerrübe zu erhöhen. Interessant ist dabei, daß das Jod auch bei der Samenbildung der Zuckerrübe, was Quantität und Qualität anbelangt, sehr günstig wirkt.

Meine Versuche wurden in Frankreich nachgeprüft, und zwar von *Lafon*[1]), der an verschiedenen Orten Versuche ausgeführt hat, und es wurde bestätigt, daß bei allen Böden, welche nicht viel Jod enthalten, d. h. wie wir fanden, bis 400 bis 500 γ Jod pro 1 kg Trockensubstanz des Bodens, mit Joddüngung gute Erfolge erzielt werden können.

Ein ganz anderes Verhalten gegen Jod als alle anderen Kulturpflanzen zeigen die *Linaceae.*

Bei unseren Vegetationsversuchen konstatierten wir, daß sich unsere Kulturpflanzen in einem Boden, dem, berechnet auf Trockensubstanz, pro 8 kg 0,25 bis 0,52 g Jod in Form von Jodkalium zugesetzt werden, überhaupt nicht weiter entwickeln. Die einzige Ausnahme machen die Linaceae. Linum usitatissimum z. B. entwickelt sich in diesem Boden ganz normal. Wir ernteten bei unseren Vegetationsversuchen pro 10 Vegetationsgefäße umgerechnet auf Trockensubstanz:

Aus nicht mit Jod gedüngtem Boden	160 g
Bei Zusatz von 0,25 g Jod in Form von Jodkalium	205 g
„ „ „ 0,52 g „ „ „ „ „	195 g

Der Jodgehalt pro 1 kg Trockensubstanz der geernteten oberirdischen Pflanzenteile betrug durchschnittlich:

Aus nicht mit Jod gedüngtem Boden	482 γ Jod
Bei Zusatz von 0,25 g Jod in Form von Jodkalium	958 γ „
„ „ „ 0,52 g „ „ „ „ „	1306 γ „

Die Pflanzengewebe der mit Jod gedüngten Pflanzen zeichneten sich durch eine große Feinheit aus. Wir sehen also, daß das Jod eine wichtige physiologische Rolle bei dem gesamten Aufbau neuer lebender Substanz der Linaceae spielt. Diese Erscheinung verdient ein weiteres, gründliches Studium, denn sie ist von großer ökonomischer und technischer Bedeutung für die Textilindustrie.

---

[1]) *Lafon* und *Quillard*, Paris 1924.

Das Jod kommt im Pflanzenorganismus zum größten Teile in Form von organischen Verbindungen vor. Jodate und Perjodate sind selten zu finden. Die organischen Verbindungen des Jods sind durch naszierenden Wasserstoff manchmal zersetzbar und manchmal nicht zersetzbar. *Yuzuru Okuda* und *Toku Eto*[1]) konstatierten, daß alte Algen mehr Jod enthalten als junge, und daß Algen im offenen Meere jodreicher sind als in den Binnenseen. Aus toten Algen diffundiert die Hauptmenge des Jods in Wasser. Wie bereits *Otto Gertz*[2]) fand, enthalten die Pflanzenorgane der Algen Jodoxydasen, welche aus den Alkalijodiden freies Jod ausspalten. Es gelang uns, in dem ausgepreßten Safte der Halophyten, Hydrophyten und Hygrophilen die Jodoxydasen mittels der Methode *Gertz* nachzuweisen.

Die von uns verwendete Methodik war nachstehende: Zum Sieden erhitzter, verdünnter Stärkekleister wurde mit Jodkalium (3 g) und Gelatine (10 g) versetzt und das Gemisch in eine Petrischale gegossen. Nach Abkühlung wurden die bei einem Druck von 350 Atmosphären ausgepreßten Pflanzensäfte den Petrischalen zugesetzt, und dann stellte man die Petrischalen an einen dunklen, kühlen Ort (am besten in den Eisschrank). Nach 3 bis 12 Stunden konnte man bereits eine Blaufärbung aller Berührungsstellen des Extraktes mit der Jodkaliumstärke wahrnehmen.

Wir konnten die Oxydase bei fast allen von uns untersuchten Halophyten, Hydrophyten und Hygrophilen nachweisen, weiter bei einer großen Anzahl von Mesophyten. Auch mittels der bekannten Reaktion mit Benzidin und Guajakharz konnten wir die Jodoxydase bei allen Halophyten, Hydrophyten und *Hygrophilen und bei den meisten Mesophyten konstatieren.*

Über den Einfluß des Jods auf die Mechanik der Atmung der Pflanzenorgane.

Ich habe bereits beobachtet, daß alle Halophyten eine viel energischere Atmung aufweisen als die anderen Pflanzen. Wir führten spezielle Versuche mit der Wurzel von Beta vulgaris aus, und zwar verwendeten wir Pflanzen, die aus Boden stammten, der mit Jodkalium gedüngt war und für den Kontrollversuch Pflanzen, die aus ungedüngtem Boden stammten.

Die genaue Beschreibung der zu diesen Versuchen verwendeten Apparate findet sich in meiner Arbeit „Über den Chemismus des Zuckerabbaues in der lebenden Pflanzenzelle und den Einfluß der Radioaktivität auf die anaerobe Atmung der Pflanzenorganismen" (Chemie der Zelle und Gewebe **12**, H. 5, 1926) sowie in meinem neuesten Buche „Handbuch der biophysikalischen und biochemischen Methoden zur Durchforschung des Bodens" (Berlin, Paul Parey, 1926).

---

[1]) *Yuzuru Okuda* und *Toku Eto*, Journ. Coll. Agric. Tokyo **5**, 341 bis 353, 1916.

[2]) *Otto Gertz*, diese Zeitschr. **169**, 435 bis 448. Lund. Univ.

Die im nachstehenden angeführten Resultate, welche den Durchschnitt von 12 Versuchen darstellen, zeigen deutlich, daß bei denjenigen Rübenwurzeln, welche größere Quantitäten Jod enthalten, der Chemismus des Zuckerabbaues in der lebenden Pflanzenzelle infolge Einwirkung des Jods viel intensiver vor sich geht als bei den jodärmeren Rübenwurzeln. Die Versuche wurden bei Zutritt von Luft ausgeführt. Interessant ist, daß in Anoxybiose, also im Wasserstoffstrom, die oxydativen Phasen durch Einwirkung des Jods nicht intensiver vor sich gegangen sind.

Die Versuche wurden bei 18 bis 20° C 10 bis 16 Tage hindurch ausgeführt, und die angeführten Resultate beziehen sich auf die von 1 kg Trockensubstanz in 24 Stunden ausgeatmete Menge Kohlendioxyd. Es wurden pro 24 Stunden 20 Liter Kohlendioxyd- und keimfreie Luft oder Wasserstoffstrom durch die Respirationsapparate hindurchgeleitet. Wir verwendeten zu diesen Versuchen sterile, ganze Zuckerrübenwurzeln, welche aus verschiedenen mit Jod gedüngten bzw. ungedüngten Böden stammten und nachstehenden Jodgehalt aufwiesen:

Wurzeln aus nicht mit Jod gedüngtem Boden pro 1 kg Trockensubstanz . . 150 bis 175 γ Jod
Wurzeln aus mit Jodkalium gedüngtem Boden pro 1 kg Trockensubstanz . . 608 „ 623 γ Jod

Die Wurzeln atmeten für die angegebenen Verhältnisse im anaeroben Zustande nachstehende Mengen Kohlendioxyd aus:

Jodarme Wurzeln . . . . . 1463 mg CO_2
Jodreiche Wurzeln . . . . . 1522 „ CO_2

In Aerobiose, bei Durchleitung von 20 Liter Kohlendioxyd und keimfreier Luft pro 24 Stunden, wurden unter denselben Verhältnissen ausgeatmet:

Jodarme Wurzeln . . . . . 2734 mg CO_2
Jodreiche Wurzeln . . . . . 3360 mg CO_2

Wir führten noch andere Versuche aus, und zwar mit Wurzeln, die aus stark mit Jodkalium gedüngtem Boden stammten. Der Jodgehalt der Wurzeln war nachstehender:

Wurzeln aus ungedüngtem Boden pro 1 kg Trockensubstanz . . . . . 150 γ Jod
Wurzeln aus stark mit Jodkalium gedüngtem Boden pro 1 kg Trockensubstanz . . . . . 870 bis 882 γ Jod

Die Kohlendioxydproduktion betrug in Aerobiose für die oben angegebenen Verhältnisse:

Jodarme Wurzeln . . . . . 2616 mg CO_2
Jodreiche Wurzeln . . . . . 4850 „ CO_2
Dies ergibt die bedeutende Differenz von 2234 „ CO_2

Diese großen Mengen ausgeatmeten Kohlendioxyds sind gewiß erstaunlich und repräsentieren die größte Energie des Atmungsprozesses, welche wir überhaupt bei den Zuckerrübenwurzeln beobachten konnten. Die Intensität dieser Prozesse wird durch die oxydative Kraft des Jods bewirkt, und namentlich bei höherer Temperatur geht der oxybiontische Zuckerabbau, also der Zerfall des Zuckermoleküls auf biologischem Wege, in Gegenwart von aktiviertem Sauerstoff sehr intensiv vor sich.

Weitere Versuche führten wir mit Kartoffelknollen aus. Die Kartoffel besitzt ebenfalls die Eigenschaft, Jod in den Knollen zu akkumulieren. Die Atmungsversuche mit den Kartoffelknollen wurden in derselben Weise vorgenommen wie mit den Zuckerrübenwurzeln. Die im nachstehenden angeführten Resultate sind Durchschnittszahlen aus acht verschiedenen Versuchen.

Der Jodgehalt der Kartoffelknollen, die aus nicht mit Jod gedüngtem Boden stammten, betrug pro 1 kg Trockensubstanz	102 γ Jod
Der Jodgehalt der aus mit Jodkalium gedüngtem Boden stammenden Kartoffelknollen betrug pro 1 kg Trockensubstanz	252 γ „
Die jodarmen Kartoffelknollen produzieren pro 1 kg Trockensubstanz in 24 Stunden	1945 mg CO_2
Die jodreichen Kartoffelknollen produzieren pro 1 kg Trockensubstanz in 24 Stunden	2574 „ CO_2

Diese Versuche mit den Kartoffelknollen dokumentieren wiederum, daß die oxydativen Prozesse bei der Atmung der Pflanzenorgane durch das Jod bedeutend gesteigert werden.

Über den Einfluß der Radioaktivität auf die Mechanik der Atmung bei jodreichen und jodarmen Pflanzenorganen.

Es ist von hoher Bedeutung festzustellen, ob bei Gegenwart von Radiumemanation, und zwar von α-Strahlen, die Mechanik der Atmungsprozesse der jodreichen Zuckerrübenwurzeln und Kartoffelknollen noch erhöht wird.

Die Atmungsversuche wurden in derselben Weise arrangiert wie bei den bereits angeführten Versuchen, nur mit dem Unterschied, daß vor dem Respirationsapparat das Emanatorium aufgestellt wurde, welches 250 g des Joachimsthaler Materials zur Radiumfabrikation enthielt, aus welchem 60 ME $= 2184 \cdot 10^{-8}$ mcu $= 21{,}840 \cdot 10^{-12}$ g Ra $= 0{,}000021\,84$ mg Ra entweichen. Durch das Emanatorium wurden pro 24 Stunden 20 Liter keimfreier und kohlendioxydfreier Luft oder reiner Wasserstoff durchgeleitet.

Versuche mit Zuckerrübenwurzeln.

Die jodarmen Wurzeln enthielten pro 1 kg Trockensubstanz 186 bis 209 γ Jod. Die jodreichen Wurzeln enthielten pro 1 kg Trockensubstanz 552 bis 610 γ Jod. Die Zuckerrübenwurzeln atmeten pro 1 kg Trockensubstanz in 24 Stunden nachstehende Mengen CO_2 aus:

In Anaerobiose.

Jodarme Wurzeln	1276 mg CO_2
Jodreiche Wurzeln	1384 „ CO_2
Jodarme Wurzeln mit Radiumemanation	1368 „ CO_2
Jodreiche Wurzeln mit Radiumemanation	1410 „ CO_2

In Aerobiose.

Jodarme Wurzeln	2652 mg	CO_2
Jodreiche Wurzeln	3467 „	CO_2
Jodarme Wurzeln mit Radiumemanation	2917 „	CO_2
Jodreiche Wurzeln mit Radiumemanation	4088 „	CO_2

Versuche mit Kartoffelknollen.

Die jodarmen Kartoffelknollen enthielten pro 1 kg Trockensubstanz 108 γ Jod. Die jodreichen Kartoffelknollen enthielten pro 1 kg Trockensubstanz 289 γ Jod. Die Kartoffelknollen atmeten in 24 Stunden pro 1 kg Trockensubstanz nachstehende Mengen CO_2 aus:

In Anaerobiose.

Jodarme Kartoffelknollen	652 mg	CO_2
Jodreiche „	673 „	CO_2
Jodarme „ mit Radiumemanation	892 „	CO_2
Jodreiche „ „ „	1032 „	CO_2

In Aerobiose.

Jodarme Kartoffelknollen	1886 mg	CO_2
Jodreiche „	2210 „	CO_2
Jodarme „ mit Radiumemanation	2368 „	CO_2
Jodreiche „ „ „	2750 „	CO_2

Diese Daten zeigen uns, daß in Anoxybiose die Atmungsprozesse der jodreichen Wurzeln durch den Einfluß der Radiumemanation keine nennenswerte Erhöhung erfahren, erst in Oxybiose bewirkt die Radiumemanation eine Steigerung der Mechanik der Atmungsprozesse bei den jodreichen Wurzeln. Also nur bei Gegenwart von aktiviertem Sauerstoff kommt der oxybiontische Zuckerabbau durch das Jod zu voller Entfaltung.

Über die Bedeutung des Jods für die oxydativen Prozesse in der chlorophyllhaltigen und chlorophyllosen Zelle.

Das Studium der Wasserstoffionenkonzentration im Safte des Wurzelsystems der einzelnen Kulturpflanzen sowie wild wachsenden Pflanzen zeigt uns, daß die Acidität des Wurzelsystems für die Resorption der mineralischen Bestandteile des Bodens nicht genügend hoch ist. Nur bei einigen wild wachsenden Pflanzen weist der Saft des Wurzelsystems ziemlich hohe Aciditätswerte auf[1]). Es sind dies hauptsächlich nachstehende:

[1]) *Stoklasa* und *Docrell*, Handbuch der biophysikalischen und biochemischen Durchforschung des Bodens. Berlin, Verlag Paul Parey, 1926.

Pflanzenart	Konzentration d. Wasserstoffionen in dem Safte des Wurzelsystems der einzelnen Pflanzen P_H
Epilobium angustifolium . .	6,09
Genista germanica	5,58
Vaccinium myrtillus	5,49
Fragaria vesca	4,91
Epilobium hirsutum	4,09
Polygonatum officinale . . .	4,10
Veronica beccabunga	2,16
Senecio vulgaris	2,31
Typha latifolia	3,11

Wir stellten Versuche mit *Senecio vulgaris* an, und zwar setzten wir pro 9,5 kg Boden 0,05 g Jod in Form von Kaliumjodid zu. Nach einer 40tägigen Entwicklung der Pflanzen bestimmten wir die Wasserstoffionenkonzentration in den oberirdischen Teilen und im Wurzelsystem. Die durchschnittlichen Resultate waren nachstehende:

	Ohne Joddüngung P_H	Mit Joddüngung P_H
Oberirdische Teile .	2,68	4,78
Wurzelsystem . . .	3,02	5,1

Wir sehen, daß durch den Einfluß des Jods die Acidität bedeutend abgenommen hat. Der Jodgehalt in Gamma = 0,001 mg pro 1 kg Trockensubstanz der ober- und unterirdischen Teile war folgender:

	Ohne Joddüngung γ Jod	Mit Joddüngung γ Jod
Oberirdische Teile .	628	1184
Wurzelsystem . . .	104	275

Ein zweiter Versuch wurde mit *Epilobium hirsutum* ausgeführt. Wir verwendeten denselben Boden und die gleichen Mengen Jod wie bei dem vorhergehenden Versuch. Die Wasserstoffionenkonzentration der ober- und unterirdischen Teile betrug nach 40tägiger Entwicklung:

	Ohne Joddüngung P_H	Mit Joddüngung P_H
Oberirdische Teile .	4,89	6,02
Unterirdische Teile	4,52	5,66

Der Jodgehalt pro 1 kg Trockensubstanz war nachstehender:

	Ohne Joddüngung γ Jod	Mit Joddüngung γ Jod
Oberirdische Teile .	958	1578
Unterirdische Teile	211	374

Diese Resultate sind äußerst interessant. Einerseits wurde nachgewiesen, daß das Jod in verhältnismäßig größeren Quantitäten von der Pflanze aufgenommen wird, und andererseits, daß durch dasselbe die Acidität herabgesetzt wurde, denn die Differenzen der Aciditätswerte bei den jodarmen und jodreichen Pflanzen sind sehr bedeutend.

Um zu erforschen, wie sich das Jod gegenüber solchen Pflanzen verhält, die dazu neigen, bei einem größeren Stickstoffgehalt des Bodens ihre Acidität zu steigern, legten wir Versuche mit Beta vulgaris an, welche, wenn dem Boden größere Mengen Chilesalpeter zugesetzt werden, ohne Zugabe von Phosphor und Kalium eine höhere Acidität aufweist. Diese Acidität wird meistens durch Bildung von Oxalsäure verursacht.

Wir setzten dem Boden pro Hektar 100 kg Stickstoff in Form von Chilesalpeter zu. Sechs Parzellen wurden, umgerechnet pro 1 ha, mit 3,6 kg Jod in Form von Kaliumjodid gedüngt, sechs Parzellen blieben ungedüngt. Nach 94tägiger Entwicklung wurde in den Blättern und Wurzeln der Beta vulgaris durchschnittlich nachstehende Wasserstoffionenkonzentration konstatiert:

	Ohne Joddüngung p_H	Mit Joddüngung p_H
Blätter	5,43	6,16
Wurzeln	5,6	6,44

Wir sehen wieder, daß durch Einwirkung des Jods die Wasserstoffionenkonzentration abgenommen hat. Alle diese Versuche dokumentieren, daß das Jod eine Herabsetzung der Acidität bewirkt und daß durch den Einfluß desselben die organischen Säuren abgebaut oder umgebaut werden.

Die organischen Säuren spielen, wie bekannt, beim Bau- und Betriebsstoffwechsel der Pflanze eine bedeutende Rolle, welche bis jetzt jedoch noch nicht genau studiert worden ist.

Namentlich der Aufbau der Oxalsäure, welcher schon *Wehmer*[1]), *Benecke*[2]), *Zaleski*, *Reinhard*[3]), *Staehelin*[4]) und *Bassalik*[5]) große Aufmerksamkeit schenkten, hat uns bei unseren Arbeiten sehr interessiert. Die Oxalsäure ist im Pflanzenreiche sehr verbreitet, und zwar hauptsächlich bei den Succulenten und Chenopodiaceae. Größere Quantitäten finden sich

[1]) *C. Wehmer*, Bot. Ztg. **49**, 233, 1891.
[2]) *W. Benecke*, ebendaselbst **61**, 79, 1903.
[3]) *W. Zaleski*, Ber. d. deutsch. Bot. Ges. **31**, 349, 1913. *Zaleski* und *Reinhard*, diese Zeitschr. **33**, 449, 1911.
[4]) *M. Staehelin*, diese Zeitschr. **96**, 1919.
[5]) *K. Bassalik*, Jahrb. f. wiss. Bot. **53**, 235, 1913; Bull. de l'Academie des sciences de Cracovie S. B. 1917, S. 203.

auch bei Rumex, Begonia und Oxalis. *Bassalik* und *Staehelin* haben auch den enzymatischen Abbau des Oxalations in der Pflanze beobachtet, und *Staehelin* konstatierte, daß ein oxalatverarbeitendes Enzym im Pflanzenreiche sehr verbreitet ist.

Ich kann diese Resultate nur bestätigen, denn auch wir stellten fest, daß bei vielen Pflanzen sowohl die chlorophyllhaltigen als auch chlorophyllosen Gewebe und Zellen die gelöste Oxalsäure mittels enzymatischer Prozesse verarbeiten können. Wir fanden auch, daß durch Einwirkung des Jods die Oxalationen beim Bau- und Betriebsstoffwechsel im Organismus viel rascher abgebaut und umgebaut werden können.

In den Preßsäften, die wir bei einem Druck von 380 Atmosphären aus den verschiedenen Pflanzenorganen gewonnen haben, kann man durch Fällung des Alkohols und Äthers ein Enzym darstellen, welches imstande ist, die Oxalsäure bei einer Temperatur von 30 bis 40° C zu verarbeiten. Die ganze Metamorphose der Oxalsäure bei Zusatz von Jod geht nur bei reichlicher Sauerstoffzufuhr vor sich. In Wasserstoffatmosphäre findet kein Abbau und Umbau statt. Das Enzym ist entschieden eine Oxydase. Die Bildung von Kohlensäure bei dieser Verarbeitung der Oxalationen wurde von uns nachgewiesen. Es besitzt dieses oxalatverarbeitende Enzym eine große Ähnlichkeit mit der von *Neuberg*[1]) entdeckten *Carboxylase*. Über die Umwandlung der Oxalsäure durch Enzyme bei Einwirkung von Jod werde ich in speziellen Arbeiten ausführlicher berichten.

Aus allen unseren Beobachtungen ist zu ersehen, daß die Jodoxydasen mit den Atmungsenzymen im Pflanzenorganismus in einer gewissen Beziehung stehen und oxydative Phasen in der chlorophyllosen und chlorophyllhaltigen Zelle hervorrufen. Wir sehen daraus, daß die Gegenwart von Jod im pflanzlichen und tierischen Organismus für die Dissimilationsprozesse sowie für den Abbau der organischen Säuren, namentlich für die Oxydation der Oxalsäure von größter Bedeutung ist.

Interessant ist, daß diese oxydativen Erscheinungen bei Gegenwart von Eisen viel energischer vor sich gehen. Unsere Beobachtungen stimmen vollständig mit den letzten Befunden von *S. Toda*[2]) überein.

Der Einfluß des Jods auf die Bildung der Furfuroide im Pflanzenorganismus.

Schon *G. de Chalmot*[3]) sprach sich dahin aus, daß die Pentosen aus Hexosen entstehen; übrigens meint er jedoch auch, daß die Pentosen nebst den Hexosen vielleicht durch Assimilationsprozesse hervor-

[1]) *C. Neuberg* und *L. Karczag*, diese Zeitschr. **36**, 68, 1911.
[2]) *Shigeru Toda*, ebendaselbst **171**, H. 1—3, 1926.
[3]) *G. de Chalmot*, Berl. Ber. **8**, 1894.

gebracht werden. Nachdem er jedoch nachgewiesen hat[1]), daß sich die Pentosen in Blättern zur Tageszeit nicht ansammeln, so scheint ihm die Annahme, daß die Pentosen nur aus Hexosen entstehen, der Wirklichkeit mehr zu entsprechen, und er hält dafür, daß aus der d-Glucose die l-Xylose und aus der d-Galaktose die l-Arabinose gebildet werden. Vergleicht man die Formel der d-Glucose mit jener von l-Xylose, sowie jene der d-Galaktose mit der der l-Arabinose, so findet man tatsächlich eine große Ähnlichkeit in der Struktur.

G. de Chalmot ist der Ansicht, daß die l-Xylose aus der d-Glucose und die l-Arabinose aus der d-Galaktose dadurch entstehen, daß die alkoholische Gruppe Sauerstoff aufnimmt, sich zu Carboxyl oxydiert und Kohlensäure frei wird. Auf diese Weise erhält man als Mittelprodukte: 1. Verbindungen mit zwei Aldehydgruppen, isomer mit Glucosen und 2. die Glucuronsäure (aus Glucose) oder eine stereoisomere Säure (aus Galaktose).

Schon in der Arbeit „Über die Verbreitung des Rohrzuckers in den Pflanzen, über seine physiologische Rolle und über lösliche Kohlehydrate, die ihn begleiten", von *E. Schulze* und *Frankfurt*[2]), wird die große Bedeutung der Saccharose, und zwar der sogenannten Zirkulationssaccharose, für die Bildung der aufkeimenden Pflanzenorgane ausführlich geschildert. Nicht minder wichtig ist in dieser Beziehung die Arbeit *J. Grüss*'[3]): „Die Rohrzuckerbildung aus Dextrose in der Zelle". *Grüss* ist bemüht, die wichtige Rolle der Saccharose bei der Samenkeimung festzustellen; alle Samen, welche sich durch große und rasche Keimenergie kennzeichnen, enthalten in ihrem Embryo Saccharose, die zur ersten Bildung von Zellmembranen dient.

Zu unseren Versuchen bezüglich der Entstehung der Pentosane und Pentosen aus der Glucose und Saccharose bei Gegenwart von Jod verwendeten wir *Pisum sativum* und *Zea Mais*. Und zwar wurden diese Experimente in der Weise durchgeführt, daß die Pflanzen in einem vollkommen sterilisierten Nährmedium, welchem in einem Falle Glucose, im anderen Falle Saccharose zugesetzt wurde, bei Gegenwart von Jod oder ohne Jod weiter zur Entwicklung gebracht wurden. Die betreffenden Pflanzen ließen wir zuerst in der Dunkelkammer aushungern, und dann wurden sie in die sterilisierten Lösungen gebracht. Die Nährlösungen enthielten pro 1 Liter 6 g Glucose bzw. 6 g Saccharose. Dieser Glucose- bzw. Saccharoselösung wurde in einer Gruppe pro 1 Liter 0,009 g Jod in Form von Jodkalium zugesetzt; weiter legten wir Kontrollversuche in glucose- bzw. saccharosefreier Nährlösung mit

[1]) Die angeführten Dokumente können aber auch in den Fehlergrenzen bei der Bestimmung des Furfurols liegen.

[2]) *E. Schulze* und *Frankfurt*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**, 6, 511.

[3]) *J. Grüss*, Deutsche Zuckerindustrie 1898, S. 333.

und ohne Jod an. Die Experimente wurden bei einer Temperatur von 20 bis 23° C in einer geräumigen Dunkelkammer ausgeführt. Nach 22 Vegetationstagen wurden die Pflanzen auf Furfurol untersucht. Der Gehalt der Trockensubstanz der Pflanzen an Furfurol war nachstehender:

	Kontrollpflanzen ohne Jod Proz. Furfurol	Kontrollpflanzen mit Jod Proz. Furfurol
Pisum sativum	2,6	2,5
Zea Mais	3,2	3,45
	Kulturen in Glucoselösung ohne Jod Proz. Furfurol	Kulturen in Glucoselösung mit Jod Proz. Furfurol
Pisum sativum	3,10	3,5
Zea Mais	3,6	4,08
	Kulturen in Saccharoselösung ohne Jod Proz. Furfurol	Kulturen in Saccharoselösung mit Jod Proz. Furfurol
Pisum sativum	3,66	4,26
Zea Mais	4,63	5,38

Diese Zahlen dokumentieren, daß sich die größten Mengen Furfurol in der Saccharoselösung, und zwar bei Zusatz von Jod gebildet haben. Wir sehen, daß durch das Jod die Bildung der Furfuroide aus der Saccharose unterstützt wird.

Wir gingen diesem interessanten Problem auch auf eine andere Weise nach, und zwar indem wir untersuchten, ob die Saccharose in der Zuckerrübe als Material für die Bildung der Pentosen und der aus diesen entstehenden Pentosane angesehen werden kann.

Die Versuche wurden in einem speziell konstruierten Glasapparat unter Einhaltung aller bakteriologischen Kautelen ausgeführt. In diese Apparate gaben wir Gefäße von 1 Liter Fassungsvermögen, welche mit sterilisierter Nährstofflösung gefüllt waren. Wir setzten dieser Nährlösung in einer Gruppe dieselben Mengen Glucose bzw. Saccharose sowie Jod zu wie bei dem vorhergehenden Versuch, und legten ebenfalls Kontrollversuche in glucose- bzw. saccharosefreier Nährlösung mit und ohne Jod an. Die Gefäße, welche 1 Liter Nährlösung enthielten, wurden mit ihrem Inhalt vor der Zugabe von Jod sterilisiert. In die Gefäße brachten wir die abgeschnittenen obersten Teile von Rübenwurzeln, die sogenannten Wurzelköpfe. Die Rüben entstammten alle derselben Züchtung (Wohanka, zuckerreiche) und hatten ihr erstes Vegetationsjahr beendet. Sie wurden derart geköpft, daß der Wurzelkopf 32 g wog. Ehe die Wurzelköpfe in die Nährlösung gebracht wurden, wurden sie gründlich mit sterilisiertem Wasser abgewaschen. Zu dem Apparat verwendeten wir vier Vorlagen, von welchen die erste mit sterilisierter Baumwolle gefüllt war, während die drei übrigen eine Lösung

von Kaliumhydroxyd enthielten. Durch die ganze Apparatur wurde täglich keim- und kohlendioxydfreie Luft geleitet. Am Boden des Apparats befand sich eine mit konzentriertem Kaliumhydroxyd gefüllte Schale, um die Kohlensäure zu absorbieren. Die Versuche wurden unter Einwirkung des Tageslichtes bei einer Temperatur von 20 bis 22° C ausgeführt. Da kein Kohlendioxyd in der Atmosphäre des Apparats enthalten war, so war der gesamte Bau- und Betriebsstoffwechsel der neu keimenden Organe auf die Reservestoffe im Wurzelkopfe (welche namentlich das Material für die Bildung neuer lebender Substanz, also für die Chlorophyllapparate enthalten) und auf die in den Lösungen enthaltene Glucose bzw. Saccharose angewiesen. Nach 32 Tagen wurde die Trockensubstanz der neu gebildeten Pflanzenorgane festgestellt und ihr Furfurolgehalt bestimmt. Die im nachstehenden angeführten Resultate bezeichnen das Gewicht der Trockensubstanz der von zehn Wurzelköpfen gebildeten neuen Organe sowie deren Furfurolgehalt.

	Kontrollpflanzen ohne Jod	Kontrollpflanzen mit Jod
Trockensubstanzgewicht . . . . g	5,68	5,77
Furfurolgehalt . . . . . Proz.	4,10	4,68

	Kulturen in Glucose-lösung ohne Jod	Kulturen in Glucose-lösung mit Jod
Trockensubstanzgewicht . . . . g	5,08	6,17
Furfurolgehalt . . . . . Proz.	5,12	5,84

	Kulturen in Saccharose-lösung ohne Jod	Kulturen in Saccharose-lösung mit Jod
Trockensubstanzgewicht . . . . g	6,93	7,84
Furfurolgehalt . . . . . Proz.	5,57	6,35

Aus diesen, mit größter Sorgfalt ausgeführten Versuchen ersehen wir, daß wiederum die Saccharoselösung, namentlich bei Gegenwart von Jod, die größte Produktion an neuen Organen bewirkt hat. Diese Bildung neuer lebender Pflanzenmasse geschah wahrscheinlich auf Kosten der Saccharose. Auch der Furfurolgehalt ist bei den aus dieser Gruppe stammenden Pflanzen am größten. Es ist demnach die Annahme nicht unberechtigt, daß die Pentosen im Cytoplasma aus Saccharose entstehen, welcher Prozeß durch Einwirkung von Jod bedeutend unterstützt wird. Es ist ferner möglich, daß gleichzeitig mit der Pentose die Galaktose entsteht. Dieser Versuch beweist, daß die Saccharose namentlich bei Gegenwart von Jod ein üppiges Wachstum und eine gesteigerte Produktion an neuen Organen bewirkt hat; desgleichen wurde auch der Furfurolgehalt bedeutend erhöht.

Diese interessanten Ergebnisse bezüglich der Einwirkung des Jods auf die Bildung neuer lebender Moleküle im Organismus der Zuckerrübe und auf die Umwandlung der Saccharose in Furfuroide sind ungemein wichtig, denn wir haben immer beobachtet, daß, wenn die Zuckerrübe

größere Quantitäten Jod enthält, stets eine Umwandlung der Saccharose in Furfuroide stattfindet.

Es ist eine schon längst bekannte Tatsache, daß die in Italien in der Nähe der Küste angebauten Zuckerrüben stets jodreicher sind als die in einer größeren Entfernung vom Meere gepflanzten. Bei den jodreichen Zuckerrübenwurzeln gehen die Atmungsprozesse auf Kosten der Saccharose viel energischer vor sich, und es wurde konstatiert, daß bei Aufbewahrung der Zuckerrüben der Saccharosegehalt bereits nach 30 bis 50 Tagen um 2 bis 4 Proz. abnimmt. *Die Verluste sind so zu erklären, daß einerseits die Atmungsprozesse durch das Jod erhöht werden und der Organismus größere Mengen Kohlendioxyd ausscheidet, und andererseits findet infolge Einwirkung des Jods eine Metamorphose der Saccharose in Furfuroide statt.*

Daß die Flora der Meeresküste größere Mengen Jod und Furfurol enthält als die Binnenflora, ist aus nachstehenden Analysenresultaten ersichtlich:

	Furfurolgehalt der Trockensubstanz der oberirdischen Pflanzenteile Proz.	Jodgehalt der oberirdischen Pflanzenteile pro kg Trockensubstanz γ
Pflanzen aus der Umgebung von Prag.		
Agrostis caespitosa	3,84	423
Hordeum vulgare	4,27	497
Lathyrus silvestris	4,75	588
Lotus corniculatus	5,09	456
Pflanzen von der Nordseeküste und vom Adriatischen Meere.		
Agrostis alba	6,99	920
Hordeum arenarium	6,73	944
Lathyrus maritimum	7,89	1263
Lotus corniculatus	8,43	1311

Wir sehen, daß die von der Meeresküste stammenden Pflanzen einen bedeutend größeren Jod- und Furfurolgehalt aufweisen.

Die Exhalationsgase aller Vulkane enthalten stets Jod, und es war von Interesse zu erfahren, ob die sich bereits unterhalb des Kraters entwickelnden Pflanzen ebenfalls jodreich sind.

Wir analysierten zu diesem Zwecke vom Vesuv stammende Pflanzen, und zwar die ersten Pioniere, welche sich in den Zonen entwickeln, wo die Luft bloß noch ganz geringe Quantitäten von Schwefeldioxyd, Fluorwasserstoff, Chlorwasserstoff usw. enthält, so daß Pflanzen bereits vegetieren können. Der Boden enthält in diesen Regionen pro 1 kg Trockensubstanz durchschnittlich 7433 γ Jod. Wir konstatierten bei *Spartium junceum* in der Trockensubstanz der oberirdischen Teile einen Furfurolgehalt von 9,36 Proz. und einen Jodgehalt von 1875 γ Jod pro 1 kg Trockensubstanz. Bei *Robinia pseudacacia*

enthielt die Trockensubstanz der Blätter 7,53 Proz. Furfurol, und der durchschnittliche Jodgehalt pro 1 kg Trockensubstanz betrug 1618 γ.

Auch der unterhalb des Vesuvs sich sehr gut entwickelnden Weinrebe enthält in den Blättern und Trauben verhältnismäßig große Quantitäten Jod. Wir konstatierten in den reifen Trauben einen durchschnittlichen Jodgehalt von 920 γ pro 1 kg Trockensubstanz. Natürlich ist auch der aus diesen Trauben gewonnene Wein jodhaltig.

Wir untersuchten bei Helgoland und Kiel die sich am sandigen und schlammigen Meeresgrunde in großer Anzahl entwickelnden Algen und fanden, daß zahlreiche dieser Algen reich an Jod, und ebenfalls an Pentosen und Pentosanen sind. Auch Methylpentosen enthielten sie in ziemlich bedeutenden Mengen[1]).

Beteiligt sich das Jod an den Stoffwechselprozessen der Mikroorganismen?

Über die Jodabspaltung und Jodspeicherung durch Mikroorganismen berichteten *Fellenberg* und *Geiringer* in ihrer Arbeit: Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur. Sie kamen zu dem Resultat, daß aus neutraler, verdünnter Alkalijodidlösung in der Zeit von 13 Tagen keine Jodabspaltung durch den Luftsauerstoff stattfindet. Eine solche erfolgte aber in ganz geringem Maße in alkalischem, stärker in saurem Medium. In Gegenwart von Bakterien oder Schimmelpilzen ist die Jodentwicklung schwächer oder bleibt ganz aus, da das frei gewordene Jod durch die Mikroorganismen gebunden wird. Die Mikroorganismen sind dabei nicht aktiv, sondern rein passiv beteiligt. Das zeigen Versuche mit Hühnereiweiß, die genau gleich ausfielen.

In neutraler Jodidlösung konnte durch Aspergillus niger keine deutliche Jodspeicherung wahrgenommen werden.

Unsere Untersuchungen, ob die Edaphonbewohner, und zwar die Bakterien, welche sich an dem Kreislauf des Stickstoffs im Haushalt der Natur beteiligen, weiter die Actinomyceten, Pilze, Algen und Protozoen das Jod assimilieren und ob dieses assimilierte Jod, welches, wie wir gefunden haben, meistens in organische Formen umgewandelt wird, den Bau- und Betriebsstoffwechsel der Mikroorganismen beeinflußt, sind sicherlich von großer Wichtigkeit.

Ich führe zuerst die Versuche an, welche wir mit den Bakterien, die an dem Kreislauf des Stickstoffs im Haushalt der Natur mitwirken, ausgeführt haben. Wir verwendeten zu unseren Experimenten Azotobacter chroococcum.

26 große Erlenmeyerkolben von 15 cm Bodendurchmesser und 40 cm Höhe wurden mit 250 ccm Nährlösung gefüllt, die eine dünne Schicht am

[1]) Schon vor 26 Jahren sammelte ich mit Geheimrat Prof. Dr. *Reinke* in Kiel Algen und untersuchte dieselben auf Methylpentosen.

Boden des Kolbens bildete. Wir teilten die Erlenmeyerkolben in zwei Gruppen zu je 13 Kolben. Die erste Gruppe enthielt nachstehende Nährlösung:

1000 ccm Flußwasser,
20 g Mannit,
0,5 g Dikaliumphosphat,
0,5 g Ferrihumat,
0,0005 g Jod in Form von Jodkalium.

Die zweite Gruppe, die Kontrollversuche, enthielt dieselbe Nährlösung, jedoch ohne Zusatz von Jodkalium.

Alle Kolben wurden vor Zusatz des Jodkaliums im Autoklaven in strömendem Dampf gründlich sterilisiert und am dritten Tage je zehn Kolben einer jeden Gruppe mittels einer Platinöse mit einer frischen Reinkultur von Azotobacter geimpft. Das Impfmaterial wurde Strichkulturen entnommen, die auf Mannitbodenextrakt-Agar angelegt waren.

Die restlichen Kolben einer jeden Gruppe wurden nochmals sterilisiert und als blinde Kolben für die chemische Analyse benutzt. Die Kolben wurden in die Brutkammer gestellt und bei einer Temperatur von 20° C 18 Tage stehengelassen.

Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Kolben untersucht, und wir konnten konstatieren, daß alle Kolben, welche Jod enthielten, ein viel üppigeres Wachstum des Azotobacters aufwiesen als die Kontrollkolben ohne Jod.

Der Stickstoffgewinn betrug pro 1 Liter im Durchschnitt aus acht bis zehn Kolben:

	1. Gruppe (mit Jod versetzt) mg	2. Gruppe (ohne Jod) Kontrollversuch mg
Mit Azotobacter geimpfte Kolben	136	92,6
Blinde Kolben	4,5	4,5
Stickstoffgewinn	131,5	88,1

Wir finden also bei der mit Jod versetzten Gruppe einen Mehrgewinn an Stickstoff von **43,4 mg.**

Wir sehen, wie stark das Jod die Assimilation des elementaren Stickstoffs durch die Azotobacterzelle bei Gegenwart von Eisen unterstützt.

Die Versuche wurden nochmals wiederholt und durchschnittlich pro 1 Liter nachstehender Stickstoffgewinn konstatiert:

In der Nährlösung mit Jod	128 mg
In den Kontrollkolben	80 „
Also ein Mehrgewinn von	48 mg

Diese Erscheinung ist ganz natürlich, weil bei dem Azotobacter die Assimilation des elementaren Stickstoffs nur während des Atmungsprozesses stattfindet. Je intensiver also die Atmung ist, desto mehr elementarer Stickstoff wird aus der Luft assimiliert. Es ist eine interessante Erscheinung, daß die physiologische Wirkung des Jods ähnlich ist wie die der Radioaktivität, und zwar der α-Strahlen. Wird über der Nährlösung radioaktive Luft von 25 ME geleitet, so steigt der

Stickstoffgewinn, wenn L-Arabinose als Kohlenstoffnährquelle dient, bis auf 230 mg pro 1 Liter. Das Jod unterstützt, ebenso wie die α-Strahlen, die Assimilation des elementaren Stickstoffs, weiter die Tätigkeit der Nitrosationsbakterien, welche Ammoniak zu salpetriger Säure oxydieren, und der Nitrifikationsbakterien, die die salpetrige Säure zu Salpetersäure oxydieren. Weiter ruft das Jod ebenfalls wie die α-Strahlen eine Depression der Lebensprozesse derjenigen Bakterien hervor, welche die stickstoffhältigen organischen Substanzen zersetzen und als Endprodukt Ammoniak bilden (Ammonisationsbakterien), sowie der Denitrifikationsbakterien, welche einen großen Teil der Nitrate zu Nitriten und schließlich die salpetrige Säure zu Stickstoffmonoxyd, Stickstoffdioxyd und elementarem Stickstoff reduzieren.

Wenn der Ackerboden Jod und Eisen enthält, so ist die Assimilation des elementaren Stickstoffs bedeutend intensiver als in jodarmen Böden. Es hat der Jodgehalt demnach eine ökonomische Bedeutung für die Stickstoff-Akkumulation im Boden. Dies gilt natürlich für vollkommene Aerobiose.

Durch den Jodgehalt des Bodens und durch das in organischer Form im Boden vorhandene Eisen wird die Entwicklung der Leguminosen ungemein unterstützt, denn es bilden sich bei Gegenwart von Jod und Eisen zahlreiche Wurzelknöllchen. Die Entwicklung von Bacillus radicicola wird durch das Jod stark gefördert.

Bei unseren mit Lupinus luteus ausgeführten Experimenten setzten wir dem Boden pro 14 kg 10 g Ferrihumat zu. Wir teilten den Versuch in zwei Gruppen. Die eine Gruppe erhielt außerdem noch 0,03 g Jod in Form von Kaliumjodid zugesetzt. Die Pflanzen wurden in der Blüte geerntet, und das Gewicht der Trockensubstanz pro zehn Vegetationsgefäße betrug:

	Mit Zusatz von Jod	Ohne Zusatz von Jod
Trockensubstanz . . g	96,63	65,97
N . . . . . Proz.	3,24	2,63

Die Schimmelpilze assimilieren Jod in verschiedenen Mengen. Bei den in humusreichen Böden vorkommenden Mucorarten geht diese Assimilation in besonders energischer Weise vor sich, wenn das Nährsubstrat Jod enthält.

Auch die Algen, und zwar nicht nur die Meeresalgen, sondern auch die Grünalgen (Chlorophyceen) assimilieren Jod in einem jodhaltigen Nährmedium, wie wir uns überzeugt haben, und wie auch die Angaben von *Fellenberg* vollständig bestätigen.

Wir setzen unsere Untersuchungen bezüglich des Jodgehalts der Schimmelpilze und Algen, sowie der physiologischen Funktion des

Jods im Organismus der Mikroorganismen weiter fort, doch können wir heute bereits behaupten, daß das Jod nicht von allen Mikroorganismen in derselben Intensität assimiliert wird, daß es hier große Unterschiede gibt, und ebenso hat das Jod bei den Lebensprozessen der verschiedenen Mikroorganismen verschiedene physiologische Funktionen.

Über den Einfluß des Jods auf die oxydativen Vorgänge im menschlichen Organismus.

Um zu sehen, wie sich die Oxydationsvorgänge im menschlichen Organismus bei Einwirkung von Jod verhalten, und wie durch das dem Organismus größtenteils in organischer Form zugeführte Jod die Wasserstoffionenkonzentration des Harns beeinflußt wird, habe ich selbst Versuche am eigenen Körper vorgenommen.

Ich nahm zu diesem Zwecke keine anorganischen Jodverbindungen zu mir, sondern jodgesättigte Kartoffeln und Radieschen, denn bei meinen früheren Experimenten, bei welchen ich Jod in anorganischer Form einnahm, und zwar in Form von Jodkalium, hatte ich keine günstigen Resultate zu verzeichnen.

Diese Kartoffeln und Radieschen stammten von einem Felde, welches pro Hektar durchschnittlich mit 3,2 kg Jod in Form von Kaliumjodid gedüngt worden war. Die geernteten jodgesättigten Kartoffeln enthielten pro 1 kg frischer Substanz 72 γ Jod, die Radieschen 1380 γ Jod. Von diesen Kartoffeln aß ich pro Tag, mittags oder abends, in verschiedener Zubereitung etwa 400 g, ich führte dem Organismus also etwa 28 γ Jod zu. Von den Radieschen aß ich täglich 50 bis 100 g, diese enthalten 69 bis 138 γ Jod. Ich nahm also pro Tag im ganzen 97 bis 166 γ Jod zu mir. Nebstdem nährte ich mich von der normalen Fleischkost und vermied jeglichen Alkoholgenuß, da durch denselben die Acidität des Harns gesteigert wird. Es ist noch zu bemerken, daß ich vor dem Versuch, also vor Einnehmen der jodgesättigten Kartoffeln und Radieschen, etwa 3 Wochen hindurch dieselben Mengen gewöhnlicher Kartoffeln und Radieschen gegessen habe, wie während des Versuchs jodhaltiger.

Bereits nach 14 Versuchstagen konnte ich eine Abnahme der Acidität des Harns konstatieren, und nach einem Monat sank die Konzentration der Wasserstoffionen des Harns auf $p_H = 5{,}6$ *bis 6,2.* Vor dem Versuch wies der Harn im Durchschnitt nach dreimonatigen Messungen eine Wasserstoffionenkonzentration von $p_H = 4{,}8$ bis 5,2 auf. Alle Messungen wurden elektrometrisch mit dem Apparat von *Michaelis* ausgeführt.

Diese Ergebnisse sind von großer Wichtigkeit und eröffnen uns ganz neue Perspektiven. Wir müssen dem menschlichen Organismus das Jod nicht mehr in anorganischer Form zuführen, sondern wir düngen die Pflanzen mit Jod, und es können diese jodgesättigten Pflanzen dann mit

Erfolg als jodhaltige Nahrung eingenommen werden. Zu diesem Zwecke eignen sich am besten Kartoffeln, Radieschen und Tomaten. Diese zwei letzten Pflanzen vermögen große Mengen Jod in ihrem Organismus zu akkumulieren. Man kann annehmen, daß die Enzyme, wie Oxydase, Peroxydase und Katalase die organischen Jodverbindungen enthalten, da wir stets das Enzym Jodoxydase nachgewiesen haben. Bei Gegenwart von Eisen in organischer Form erfahren die oxydativen Phasen im menschlichen Organismus eine bedeutende Steigerung.

In neuester Zeit haben *Kelley*[1]) und *Hunziker*[2]) Versuche mit Jod ausgeführt und konstatierten, daß durch dasselbe der gesamte Bau- und Betriebsstoffwechsel im tierischen und menschlichen Organismus bedeutend unterstützt wird. Es wird durch das Jod die Assimilation in hohem Maße gefördert, und die für den Körper so wichtigen Phosphor-, Eisen- und Kaliumionen werden im Organismus zurückbehalten. Kinder, welche mit Gemüse ernährt wurden, welches von einem stark mit Jodkalium gedüngten Felde stammte, entwickelten sich auffallend rasch und gut. Auch die sexuelle Tätigkeit wird durch das Jod angeregt. Dies konnten wir auch bei Beta vulgaris konstatieren. Es wurde in der zweiten Vegetationsperiode durch den Einfluß des Jods die Samenbildung erhöht, und es waren auch die Samen viel besser entwickelt. *Pickworth*[3]) stellte Versuche mit Schilddrüsenextrakt an, und es zeigte sich, daß der Jodgehalt desselben bei der Bekämpfung von Infektionen von größter Bedeutung ist.

Ich erwähne weiter die Arbeiten von *Roux, Bayard, Klinger, Bischer, Veil, Sturm, Maurer*, welche ebenfalls die physiologische Funktion des Jods im tierischen Organismus studierten, und zwar beschäftigten sie sich namentlich mit dem Jodgehalt der Schilddrüse.

Theodor von Fellenberg hat in seiner Arbeit über Joddüngung und Jodfütterung nachgewiesen, daß die Fütterung mit jodreichen Runkelrübenblättern zwar eine nicht sehr große, aber doch merkliche Zunahme des Jodgehalts der Milch bewirkte. Bei Fütterung mit Rübenwurzeln ließ sich eine Zunahme des Jodgehalts nicht konstatieren. Die Hauptmengen des ausgeschiedenen Jods fand man im Harn und hauptsächlich im Kot. Ein starkes Defizit in der Bilanz deutet auf eine bedeutende Jodausscheidung durch die Haut hin.

Sehr interessant sind die von *Niklas, Strobel* und *Scharrer*[4]) ausgeführten Versuche. Sie fanden, daß eine Jodgabe von 180 mg pro Tier und Tag eine beträchtliche Steigerung des Milchertrags verursachte. Bei einer Jodgabe von 120 mg pro Tier und Tag war die absolute Fettmenge der Milch höher, der prozentische Fettgehalt erschien, bedingt durch die Steigerung der Milchmenge, niedriger. Bei einer Jodgabe von 180 mg pro Tier und Tag stieg anfangs die absolute Fettmenge und fiel dann wieder,

---

[1]) *Kelley*, Biochem. Journ. **19**, Nr. 4, 1925.

[2]) *Hunziker* und *Eggenberger*, Die Prophylaxis der großen Schilddrüse, Bern und Leipzig 1924.

[3]) *Pickworth*, Annual Meeting of the Medico-Psychological Association of Great Britain and Ireland, Juli 1925.

[4]) *H. Niklas, A. Strobel* und *K. Scharrer*, diese Zeitschr. **170**, H. 4—6, S. 277.

während der prozentische Fettgehalt ständig niedriger war. Irgendwelche Beeinflussung des Gewichts durch die Jodgaben hat nicht stattgefunden.

Es wäre sehr interessant, diese Versuche fortzusetzen, denn es ist diese Frage bezüglich der typischen physiologischen Leistungen des Jods im Organismus von eminenter Bedeutung, und es ist erforderlich, daß diesem Problem allgemeine Aufmerksamkeit zugewendet wird.

Zusammenfassung.

1. Alle Geobionten, die das Edaphon bewohnen, assimilieren das Jod, jedoch in verschiedener Intensität. Bei denjenigen Geobionten, die sich durch lebhafte Atmungsprozesse auszeichnen (wie z. B. die Bakterien, welche den elementaren Stickstoff assimilieren), spielt das Jod als Jodoxydase eine wichtige Rolle.

2. Auch die Siphonogamae (Phanerogamae) assimilieren mittels des Wurzelsystems und der Blätter das Jod, aber mit ungleicher Energie. Bei den Halophyten, Hygrophilen und Hydrophyten fanden wir die größte Potenz der Jodresorption. Auch gewisse Mesophyten besitzen die Eigenschaft, größere Mengen Jod in ihrem Organismus zu akkumulieren. Wenn der Boden pro 10 kg 0,5 g Jod enthält, so entweicht das Jod durch Einwirkung der anorganischen Katalysatoren, sowie infolge der Dissimilationstätigkeit der Bakterien und die dadurch entstandene Erwärmung des Bodens und es wirkt das Jod bei der Mehrzahl der Pflanzen bereits schädlich auf die Chlorophyllapparate. Eine Ausnahme bilden die Linaceae.

3. Die physiologische Funktion des Jods bei dem Chemismus der lebenden Zelle manifestiert sich beim Oxydationsprozeß. Man kann annehmen, daß durch das Jod, besonders in Gegenwart von Eisen, und α-Strahlen der Radiumemanation die oxydativen Phasen der Mechanik der Atmungsprozesse bedeutend gefördert werden.

4. Das Jod bewirkt im pflanzlichen, tierischen und menschlichen Organismus rasche Mineralisationsprozesse. Es wird durch das Jod die Wasserstoffionenkonzentration im Pflanzenorganismus herabgesetzt, was von größter Wichtigkeit ist, da durch Anhäufung von organischen Säuren die Enzymtätigkeit eine Depression erfährt und das Chlorophyll in den Chlorophyllapparaten abgebaut wird. Wir finden auch stets in den Chlorophyllapparaten größere Quantitäten Jod als im Wurzelsystem.

5. Das Jod bewirkt bei den Halophyten, bei einigen Hydrophyten und Hygrophilen, sowie auch bei gewissen Mesophyten eine Erhöhung des gesamten Kraft- und Stoffwechsels, und es wird bei Zugabe von Jod der Bau- und Betriebsstoffwechsel in den betreffenden Pflanzenorganismen bedeutend gefördert.

6. Das Jod unterstützt im Pflanzenorganismus die Bildung der Furfuroide namentlich aus der Saccharose. Wir konstatierten auch bei den Halophyten, gewissen Hydrophyten und Hygrophilen größere Mengen an Furfuroiden als bei den Mesophyten und Xerophyten.

7. Das Jod wird von vielen Pflanzen in verhältnismäßig großen Quantitäten assimiliert und in organische Formen umgewandelt. Diese jodgesättigten Pflanzen haben eine wichtige pharmakologische Bedeutung und können dem tierischen und menschlichen Organismus mit Erfolg an Stelle von anorganischen Jodverbindungen zugeführt werden.

8. Diese jodgesättigten Pflanzenorgane unterstützen die oxybiotischen Prozesse im tierischen und menschlichen Organismus und verhindern eine Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration in den einzelnen Organen.

Das Stickstoffgleichgewicht im Sekret bei einigen normalen und pathologischen Verhältnissen der Drüseninnervation.

Von

D. Alpern und **L. Lindenbaum.**

(Aus dem Laboratorium für experimentelle Pathologie des Staats-Psychoneurologischen Instituts zu Charkow.)

(Eingegangen am 21. Juni 1926.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Zweck der Untersuchung.

Aus den Untersuchungen des einen von uns[1]) über die Rolle der Kationen und Anionen im Mechanismus der Wirkung des Innervationsapparats der Gl. submaxillaris bei Hunden geht mit hinreichender Deutlichkeit unter anderem hervor, daß der Koeffizient K/Ca von *Loeb*, der im Prozeß der Muskelkontraktion so bedeutungsvoll ist, auch keine geringere Rolle in der Sekretionsarbeit des Drüsengewebes spielt. Außerdem erfolgt die Regulation dieses Koeffizienten durch die Funktion des sympathischen Nerven der Drüse, während der parasympathische Nerv (Chorda) die Wasserausscheidung regelt und das durch den sympathischen Nerv geschaffene Gleichgewicht der Kationen nur mittels seiner „motorischen" Wirkungen auf die Drüse zu ändern vermag. Bezüglich der Anionen und insbesondere des Chlors zeigte es sich in hinreichender Deutlichkeit, daß die Ausscheidung des Chlors im Speichel bei ganz gleicher Sekretionsgeschwindigkeit ebenfalls vom Zustande der sympathischen Innervation der Drüse abhängt, was sich von der Chorda nicht sagen lassen kann.

Auf Grund dieser Versuche kann man selbstredend von der Rolle des sympathischen Nerven bei den nutritiven Prozessen im Drüsengewebe sprechen, als dessen Lebensäußerung sein Sekret erscheint. Diese Rolle des Sympathicus ist als Anpassungsakt an die korrelative Ordnung im Organismus überhaupt aufzufassen. Mit dem Begriff der „Trophik" umfaßt man jedoch gewöhnlich [*Cassirer*[2])] die Regulation der synthetischen Prozesse in der Zelle oder die der Analyse der kalorisch

[1]) *D. Alpern*, Pflügers Arch. **209**, H. 5/6, 1925.

[2]) *Cassirer*, Ergebn. d. allg. Path. u. pathol. Anat., Jahrg. 13, Abt. II, 1909.

wertvollen Stoffe, denn die Frage über die Rolle der Salzbestandteile begann erst vor gar nicht langer Zeit in physiko-chemischer Hinsicht die Untersucher über die Fragen der Ernährung und den Stoffwechsel zu interessieren. Und insbesondere der Stickstoffstoffwechsel oder richtiger das Stickstoffgleichgewicht ist in der angedeuteten Beziehung hin an die erste Stelle zu setzen, wobei ich daran erinnere, wie vorsichtig die Zelle gegenüber den Prozessen des Aufbaues und Abbaues der Stickstoffverbindungen in ihrem Protoplasma sich verhält.

Bezüglich des sympathischen Nerven der Speicheldrüse sprechen die Untersuchungen von *Henri* und *Malloizel*[1]) und *Babkin*[2]) scheinbar dafür, daß die Ausschaltung der sympathischen Innervation der Drüse die organischen Bestandteile des Speichels gegenüber der Norm vergrößert. Hiermit aber kommt die Rolle des sympathischen Nerven in der Regulation des organischen Stoffwechsels in der Speicheldrüse nicht genugsam zum Ausdruck, denn es handelt sich hier bloß um eine quantitative Bestimmung der festen Bestandteile des Sekrets.

Die erwähnte Rolle des sympathischen Nerven in der Regulation des „Aschenstoffwechsels" nach der alten Vorstellung in der Drüse heißt uns jedoch auch im organischen Stoffwechsel nach einer ebensolchen Regulation zu fahnden, aber unter einem anderen Gesichtspunkt: Kann man hinsichtlich der Bildung und Ausscheidung von organischen Stoffen durch die Drüse den Sympathicus als Antagonisten der Chorda ansehen und besteht eine Möglichkeit, auf solche Weise die Funktion beider in bezug auf den Chemismus des Gewebes überhaupt näher zu bestimmen? Damit erhielt der Anteil der sympathischen Innervation in einer ganzen Reihe von Störungen von Stoffwechselprozessen, die von der Klinik angenommen werden, ihre experimentelle Erklärung. Bezüglich der Chorda muß aber hier schon bemerkt werden, daß jeder Versuch einer Zerstörung der Ganzheit der Chorda in der Drüse (z. B. ihre Durchschneidung, die die wichtigste Methode zum Beweis der spezifischen Anteilnahme des Nerven in dieser oder jener Störung des Sekretionsprozesses bildet) schon von allen Anfang an von einer Veränderung der Reaktion der Drüse auf eine Reizung hin und selbst von einer Atrophie der Drüse begleitet ist, was auf den Stickstoffbestand des Sekrets den unberechenbarsten Einfluß ausübt, der den logischen Gang in der Lösung der gestellten experimentellen Aufgabe empfindlich stört.

Gleichwohl ist es noch zu wenig, die Rolle des sympathischen Nerven in den Störungen des N-Gleichgewichts zu untersuchen und damit die Anschauung, daß er ein vorwiegend trophischer Nerv sei, zu unterstützen; es ist notwendig, auch den Mechanismus der beobachteten

[1]) *Henri* et *Malloizel*, C. P. de la S. de Biol. **54**, 760, 1902.
[2]) *Babkin*, Pflügers Arch. **149**, 521, 1913.

Erscheinungen zu erklären. Dies erscheint in der vorliegenden Arbeit um so begründeter, als alle in bezug auf das Elektrolytengleichgewicht im Speichel und auf die Ausscheidung von vitalen Farben[1]) mit diesem bei Innervationsstörungen erhaltenen Resultate zur Annahme zwingen, daß der Mechanismus der sympathischen Wirkungsweise in seiner Eigenschaft besteht, jenes physiko-chemische Gleichgewicht im Gewebe zu ändern, das diese oder jene „Zellpermeabilität" der letzteren bedingt. Und wiederum ist hervorzuheben, daß gerade die Unterkieferspeicheldrüse mit ihrem entwickelten viszeralen Innervationsapparat für die Beantwortung dieser Frage besonders geeignet ist.

Die Unterkieferspeicheldrüse des Hundes bildet Muzin, scheidet mit dem Speichel eine, wie wir weiter sehen werden, streng bestimmte Menge sogenannten Reststickstoffs aus dem Blute aus, dessen wichtigster Bestandteil Harnstoff bildet; andere native Eiweißstoffe werden mit dem Speichel fast gar nicht abgeschieden. Durch Änderung des Charakters der Drüseninnervation läßt sich natürlich sehr leicht sowohl bei gewöhnlicher Drüsenarbeit als auch bei Stickstoffbelastung des Organismus der Grad der Veränderlichkeit der Permeabilität des Gewebes berechnen, und — was im vorliegenden Falle ebenfalls von Bedeutung ist — nochmals der Mechanismus des Zustandekommens der spezifischen Funktion des sympathischen Nerven zeigen, durch seine Einwirkung auf eben diese Permeabilität des Gewebes, die durch bestimmte Wechselbeziehungen zwischen den Elektrolyten und Kolloiden bedingt wird, welche verschiedenen Verbindungen den Zutritt zur Zelle entweder gewähren oder verweigern.

Untersuchungsmethode.

Die Versuche wurden an 7 bis 12 kg schweren Hunden vorgenommen, die stets unter den gleichen Bedingungen experimenteller Beobachtung gehalten wurden. Die chronischen Fisteln der Unterkieferspeicheldrüsen wurden nach *Glinski* angelegt. Wir hatten auch Hunde mit doppelseitigen Fisteln zur Verfügung, um gleichzeitig an einem und demselben Tiere die erhaltenen Resultate über die Funktion einer normalen und (hinsichtlich der Innervation) pathologischen Drüse überprüfen zu können. Im Verlauf der Untersuchung wurde die Exstirpation des Gangl. cervic. sup. an der gleichen Seite oder bei den Hunden mit zwei Fisteln auf einer Seite vorgenommen, wobei sowohl vor wie nach der Operation der Speichel auf verschiedene Reizerreger (Brotpulver und Pilocarpin) hin untersucht wurde. Die Glaubwürdigkeit, wir wiederholen es, der erhaltenen Resultate trägt den Charakter des Tatsächlichen bei der Untersuchung des Sekrets der doppelfisteligen Hunde, bei denen auf das Reizmittel hin uns stets die gleiche Menge von Sekret zu erhalten gelang. Außer der Exstirpation des Gangl. cervic. sup. wurde bei einigen Hunden später auch die Chorda durchschnitten; infolge der daraufhin sich einstellenden Drüsenatrophie muß

[1]) *D. Alpern*, nach einem Manuskript.

aber bei der Stickstoffbalance stets diese Atrophie in Betracht gezogen werden.

Zwecks Prüfung der sympathischen Innervation der Drüse oder ihrer Abwesenheit mit Hinsicht auf die elektrolytischen Wechselbeziehungen in der Drüse untersuchten wir von Zeit zu Zeit den Effekt der $K^{\cdot}$- und $Ca^{\cdot\cdot}$-Wirkung auf die nervenlose Drüse; wir injizierten zu diesem Zwecke $CaCl_2$ und KCl in Dosen von 0,05 der ersteren und 0,03 der letzteren pro Kilogramm Körpergewicht des Tieres intravenös und nahmen 4 bis 5 Minuten nach der Injektion den Speichel zur Analyse.

Der Gesamt- und Reststickstoff (Ges.-N und Rest-N) des Speichels wurde von uns nach der Methode von *Acél*[1]) untersucht. Nach unseren zahlreichen Untersuchungen an acht Hunden zu schließen, haben wir die Tatsache zu bemerken, daß unsere Zahlen über den Gesamt- und Reststickstoffgehalt im Speichel der Hunde auf dasselbe Reizmittel hin bei den verschiedenen Hunden einander sehr nahe stehen, mitunter eine gerade Linie mit ganz unbedeutenden Schwankungen vorstellen, die sich vollständig ausgleichen, wenn wir von dem für unsere Schlußfolgerungen besonders wichtigen Koeffizienten Rest-N : Ges.-N ausgehen; der Schwankungsunterschied beträgt dann weniger als $\pm$ 5 Proz. Die von uns erhaltenen Zahlen stimmen im übrigen mit denen von anderen Forschern im gemischten Speichel von Menschen für den Gehalt an Stickstoffverbindungen erhaltenen überein[2]). Der hauptsächlichste Anteil des Rest-N fällt wie im Blute dem Harnstoff zu (über 90 Proz.) und wir können daher die Meinung jener Pathologen und Kliniker bestätigen, welche behaupten, daß man nach der Menge und dem Charakter des Anwachsens des Rest-N im Speichel eine vollkommene Vorstellung von den Erscheinungen einer steigenden Azotämie bekommen kann[3]).

Um schließlich die Rolle des sympathischen Nerven auf die Permeabilität der Drüse festzustellen, injizierten wir Harnstoff dem Tiere intravenös in verschiedenen Dosen, indem wir den Rest-N im Speichel untersuchten und diese Injektionen unter verschiedenen Bedingungen des Innervationszustands der Drüse ausführten. Wir bestimmten hierbei den Harnstoffgehalt des Sekrets nach der Ureasemethode.

Im ganzen stellten wir über 100 Versuche an. Die Hunde befanden sich nicht weniger als zu 6 Monaten ein jeder in Beobachtung.

Wir halten es für notwendig, hier auf die Tatsache hinzuweisen, daß wir die erhaltenen, deutlich ausgesprochenen Veränderungen des Stickstoffbestands nicht auf eine Veränderung der Gefäßversorgung der Drüse infolge der Exstirpation des Ganglion zurückführen, und zwar aus folgenden Gründen: 1. Alle beobachteten Veränderungen traten nicht gleich nach der Operation auf, sondern erst nach 6 bis 7 Tagen, indem sie sich allmählich verstärkten, während die Gefäßreaktion infolge der Ganglionexstirpation sehr rasch auftritt. 2. Die Untersuchungen von *Alpern* über die Elektrolyten im Sekret zeigen, daß die Veränderlichkeit des Chemismus des Speichels, die nach der Exstirpation auftritt, auch nach der Injektion des gefäßverengernden Adrenalins nicht verschwindet, und 3. gibt die Gesetzmäßig-

[1]) *Acél*, diese Zeitschr. **121**, 120 bis 124, 1922.

[2]) *Desgrez*, *Moog* und *Gabriel*, C. r. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 1925, Nr. 21, S. 755.

[3]) *Landsberg*, Klin. Wochenschr. **2**, 306, 1923; *Desgrez*, *Mood* und *Gabriel*, C. r. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 1925, Nr. 21, S. 755.

keit der beobachteten Tatsachen in den verschiedenen Versuchsanordnungen und Kombinationen die Überzeugung, daß das Gefäßsystem (seine Lumenveränderungen) nicht die Ursache für jene Veränderungen darstellen kann, die in den unten angeführten Tabellen zu ersehen sind.

Beschreibung der Versuche.

Wie aus Tabelle I zu ersehen ist, ist der Umfang der Schwankungen des Ges.-N- und Rest-N-Gehalts im Sekret einer und derselben Drüse ein sehr geringer. Diese Beständigkeit, die besonders im Koeffizienten Rest-N : Ges.-N zum Ausdruck kommt, bleibt nicht bloß für ein und dasselbe Tier und unter ein und denselben Versuchsbedingungen erhalten, sondern erstreckt sich auch auf andere Tiere und auf die verschiedenen Tageszeiten. Dieser Umstand zwingt zu einer besonderen Aufmerksamkeit gegenüber selbst geringfügigen Schwankungen, die sich auf die Norm beziehen, und heißt die Erklärung für sie in dem pathologischen Moment zu suchen, das in diesem oder jedem Falle absichtlich in bezug auf die Drüsensekretion hervorgerufen wird.

Tabelle I[1]).

Nr. des Hundes	Gewicht kg	Datum 1925 u. 1926	Ges.-N mg-Proz.	Rest-N mg-Proz.	Koeffizient Rest-N : Ges.-N	Speichelmenge in 5 Minuten ccm
1	14	2. X.	55	11,2	1 : 4,92	7,5
		4. X.	52	10,2	1 : 5,01	7,5
		8. X.	52,8	10,2	1 : 5,01	8,0
	Mittel:		53,2	10,5	1 : 4,97	7,7
2	22	10. XI.	47,28	9,3	1 : 5,08	8,5
		11. XI.	49,92	10,2	1 : 4,90	9,0
		14. XI.	51,0	10,2	1 : 5,00	8,5
	Mittel:		49,7	9,9	1 : 4,99	8,7
3	20	26. XI.	52,8	10,2	1 : 5,01	7,0
		29. XI.	49,9	10,2	1 : 4,90	7,0
		2. XII.	40,8	8,2	1 : 4,98	7,0
	Mittel:		47,8	9,5	1 : 4,96	7,0
4	22	12. I.	42,8	10,25	1 : 5,19	7,1
		19. I.	56,10	10,4	1 : 4,93	7,1
		18. I.	52,1	10,2	1 : 5,01	7,2
	Mittel:		53,65	10,7	1 : 5,02	7,1
6	13	26. I.	52,8	10,2	1 : 5,17	6,5
		28. I.	52,8	10,2	1 . 5,17	6,5
		30. I.	55,2	11,25	1 : 4,90	6,0
	Mittel:		53,6	10,6	1 : 5,08	6,3

[1]) In der vorliegenden Tabelle sind die Zahlen des Ges.-N und Rest-N im Speichel von Hunden gebracht, die mit Brotpulver gefüttert wurden.

Wie weiter zu ersehen ist, kommt die Beständigkeit der Beziehungen von Rest-N : Ges.-N auch im Sekret zum Ausdruck, das auf die Wirkung von Pilocarpin hin erhalten wurde; in diesem Falle ändert sich der Koeffizient in der Richtung eines Anwachsens des Rest-N und einer Verminderung des Ges.-N. Die Untersuchung des Speichels aus beiden Fisteln eines und desselben Tieres (bei drei Hunden) zeigte aber, daß die angegebenen Verhältnisse für das Sekret der Drüsen bei demselben Tiere absolut identisch und nicht den geringsten Schwankungen unterworfen sind, wenn man nicht die aus der Methodik sich ergebenden Schwankungen zweier zur Analyse genommenen Portionen in Betracht zieht.

Tabelle II.

(Nach Entfernung des Gangl. cervic. sup.)

Nr. des Hundes	Datum 1925 u. 1926	Ges.-N mg-Proz.	Rest-N mg-Proz.	Koeffizient Rest-N : Ges.-N	Menge des Speichels ccm	Anmerkungen
1	23. X.	55,2	5,7	1 : 9,68	8,0	Reizmittel: trock. Brotpulver
	24. X.	52,8	5,3	1 : 9,96	8,0	Entferng. d. Ganglion am 18. X. 1925
	30. X.	52,8	6,2	1 : 8,46	8,0	
	Mittel:	53,6	5,7	1 : 9,36	8,0	
2	4. XII.	49,92	4,02	1 : 12,41	8,5	Entfernung des Ganglion am 28. XI.
	6. XII.	49,92	4,50	1 : 11,09	9,0	
	11. XII.	43,20	4,20	1 : 10,29	9,0	
	Mittel:	47,34	4,30	1 : 11,23	8,7	
3	26. XII.	67,0	5,5	1 : 12,02	7,0	Entfernung des Ganglion am 18. XII.
	2. I.	67,0	5,1	1 : 12,35	6,5	
	4. I.	55,2	5,5	1 : 10,03	7,5	
	Mittel:	63,06	5,3	1 : 11,52	7,0	
5	5. II.	60,0	12,3	1 : 4,08	7,0	Kontrolle
	10. II.	55,8	12,3	1 : 4,53	6,0	
	13. II.	52,8	10,2	1 : 5,17	7,0	
	Mittel:	56,2	11,6	1 : 4,59	6,6	
5	5. II.	50,4	6,3	1 : 8,0	7,0	Entfernung des Ganglion am 21. I. 1926
	10. II.	52,8	5,8	1 : 9,1	6,5	
	13. II.	48,0	6,0	1 : 8,0	7,0	
	Mittel:	50,4	6,03	1 : 8,36	6,8	

Die Tabelle II zeigt uns den Gehalt und den Koeffizienten der Beziehung Rest-N : Ges.-N im Speichel nach der Exstirpation des Gangl. cervic. sup. an der entsprechenden Seite. In den angeführten (und auch in den hier nicht angeführten) Versuchen tritt deutlich das Resultat dieser Desympathisierung der Drüse vor Augen, das darin zum Ausdruck kommt, daß der Ges.-N im Speichel sich häufiger etwas erhöht, oder in statu quo bestehen

bleibt, oder selbst ganz unbedeutend abnimmt, der Rest-N-Gehalt aber in allen unseren zahlreichen Versuchen die deutlichsten Veränderungen zeigt. Wir beobachteten im Verlauf einer langen Zeit stets eine Abnahme von Rest-N um mehr als die Hälfte. Besonders deutlich waren diese Veränderungen in dem hier angeführten Versuch 5, wo bei dem Hunde auch eine Kontrollfistel bestand; der Unterschied des Koeffizienten Rest-N : Ges.-N im Speichel der Kontrolldrüse von dem der entnervten Drüse bestätigt in aller Deutlichkeit die gefundene allgemeine Gesetzmäßigkeit der Veränderungen der Stickstoffbeziehungen überhaupt.

Unter den von uns untersuchten acht Hunden beobachteten wir nach der Entfernung des Ganglions nur bei einem beinahe überhaupt keine Veränderungen, was auf ein Erhaltenbleiben des sympathischen Tonus in der operierten Drüse entweder infolge Erhaltenseins des peripheren sympathischen Tonus oder ein Übergreifen der entsprechenden Drüsenseite nach der anderen Seite oder aber auf eine Mangelhaftigkeit der Operation selbst zurückgeführt werden muß. Hier ist auch zu erwähnen, daß die in Rede stehenden Veränderungen von Rest-N : Ges.-N im Sekret nicht gleich nach der Operation auftreten, sondern sich langsam im Verlauf von 6 bis 7 Tagen nach der Operation entwickeln. Dasselbe beobachteten wir im Speichel, der auf Pilocarpin erhalten wurde; auch hier nimmt nach der Exstirpation des Ganglion die Menge des Rest-N im Verhältnis zur Norm deutlich ab, um die Hälfte oder weniger (Tabelle III und Abb. 1).

Abb. 1.
Der Koeffizient Rest-N : Ges.-N unter verschiedenen Innervationsbedingungen der Drüse.

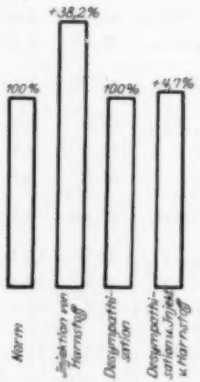


Abb. 2.
Austritt des Harnstoffes aus der Drüse in Proz.; seine Menge in der Norm und nach der Desympathisation für 100 genommen.

Hier ist zu unterstreichen, daß sämtliche in der Tabelle III angeführten Veränderungen durchaus nicht mit den quantitativen Änderungen in der Sekretion der nervenlosen Drüse in Verbindung stehen, denn diese Sekretion blieb auch nach der Operation nahe der Norm. Die Portionen, die quantitativ voneinander sehr verschieden waren, wurden für die Analyse überhaupt nicht verwendet.

Tabelle III[1]).

Reizmittel: Pilocarpin in einer Dosis von 0,25 mg pro Kilogramm.

Nr. des Hundes	Datum 1925 u. 1926	Ges.-N mg-Proz.	Rest-N mg-Proz.	Koeffizient Rest-N : Ges.-N	Anmerkungen
1	10. X.	31,2	12,6	1 : 2,47	Vor der Exstirpation des Ganglion
	20. XI.	31,2	8,04	1 : 3,88	Nach „ „ „ „
	30. XI.	48,4	10,2	1 : 4,74	Nach der Durchschneidung der Chorda
2	25. XI.	28,8	12,1	1 : 2,38	Vor der Exstirpation des Ganglion
	23. XII.	30,0	8,7	1 : 3,45	Nach „ „ „ „
3	5. XII.	26,0	12,8	1 : 2,03	Vor der Exstirpation des Ganglion
	7. I.	26,4	6,6	1 : 4,0	Nach „ „ „ „
	26. I.	52,1	10,22	1 : 4,99	Nach der Durchschneidung der Chorda
4	5. III.	26,4	12,8	1 : 2,06	Vor der Exstirpation des Ganglion
	24. III.	31,2	7,02	1 : 4,44	Nach „ „ „ „
	1. IV.	48,4	10,2	1 : 4,74	Nach der Durchschneidung der Chorda
5	24. II.	31,2	14,1	1 : 2,21	Vor der Exstirpation des Ganglion
	24. II.	33,0	7,02	1 : 4,70	Nach „ „ „ „
					Hund Nr. 5 mit zwei Fisteln

Um noch deutlicher die Ursache zu erfassen, die den erwähnten Änderungen zugrunde liegen, injizierten wir den Hunden mit den desympathisierten Drüsen intravenös $CaCl_2$, wohl wissend, daß $Ca^{"}$ den in der Drüse fehlenden sympathischen Tonus funktional herzustellen imstande ist. Wie aus der Tabelle IV zu ersehen ist, kommt es schon in der vierten

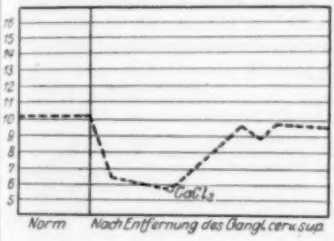


Abb. 3.
Einwirkung des $Ca^{"}$ auf die Rest-N-Kurve des Drüsensekretes.

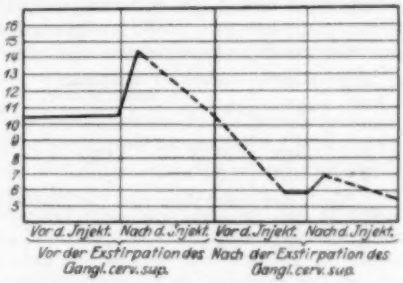


Abb. 4.
(Hund Nr. 7.) Ausscheidung von Harnstoff im Speichel vor und nach der Injektion von 1 g Harnstoff intravenös.

Minute nach der Injektion von $Ca^{"}$ in einer Menge von 0,05 pro Kilogramm Körpergewicht zu einem Anwachsen des Rest-N bis fast zur Norm. Solche Resultate bestätigen die Abhängigkeit der oben beschriebenen Veränderungen im Stickstoffbestand eben von dem Verlust der sympathischen Innervation der Drüse, welche durch $Ca^{"}$-Kationen ersetzt werden kann. Indem wir weiter die Spezifität gerade der Wirkung von $Ca^{"}$ in diesem Sinne (s. Abb. 3) und nicht von $K^{'}$ in Betracht ziehen (denn nach KCl-

[1]) In dieser Tabelle sind die mittleren Zahlen von zwei Analysen für jede Periode — vor und nach der Exstirpation des Ganglion — gebracht.

Injektionen wird eine Rückkehr des Rest-N-Spiegels zur Norm nicht beobachtet), kommen wir auch der Frage über den Mechanismus der Regulation des Stickstoffgleichgewichts des Speichels durch den sympathischen Nerven näher, das zum Teil vom Rest-N aufrechterhalten wird, welcher fast ganz von Harnstoff dargestellt wird, der je nach der Zellpermeabilität der Drüse in verschiedenen Mengen in den Speichel übertreten kann.

Tabelle IV.

Intravenöse Injektion von $CaCl_2$ in einer Dosis von 0,05 pro Kilogramm Hunden mit exstirpiertem Gangl. cervic. sup.

Nr. des Hundes	Datum 1925 u. 1926	Ges.-N mg-Proz.	Rest-N mg-Proz.	Koeffizient Rest-N : Ges.-N	Anmerkungen
1	14. XI.	56,16	6,3	1 : 8,91	Vor der Injektion
	14. XI.	56,0	9,3	1 : 6,02	Nach „ „
2	11. XII.	52,8	6,2	1 : 8,51	Vor „ „
	11. XII.	44,8	8,7	1 : 5,14	Nach „ „
3	5. I.	50,4	5,8	1 : 8,69	Vor „ „
	5. I.	55,2	9,3	1 : 5,94	Nach „ „
5	25. II.	52,8	5,7	1 : 9,26	Vor „ „
	25. II.	45,6	9,3	1 : 4,90	Nach „ „

Tabelle V.

Versuche an einem Hunde mit zwei Fisteln bei intravenöser Injektion von Harnstoff.

Nr. der Drüsenfistel	Ges.-N mg-Proz.	Rest-N mg-Proz.	Koeffizient Rest-N : Ges.-N	Harnstoff mg-Proz.	Anmerkungen
1	50,2	10,25	1 : 4,9	20	Fistel 1 (rechte) Kontrolldrüse
2	52,8	5,6	1 : 9,1	9	Fistel 2 (linke) der ihrer sympathischen Innervation beraubten Drüse
Nach der Injektion von 1 g Harnstoff					
1	55,2	16,08	1 : 3,4	33	
2	52,4	8,7	1 : 6,0	18	

Schließlich bleibt uns noch die Untersuchung über die Veränderlichkeit des Koeffizienten im Speichel der Hunde nach der auf die Durchschneidung des Sympathicus folgenden Loslösung der Drüse von ihrer parasympathischen Innervation übrig. In diesem letzteren Falle bekommen wir eine Sekretion bloß nach Pilocarpin und haben die erhaltenen Resultate mit dem Stickstoffbestand des Speichels einer normalen Drüse zu vergleichen, der ebenfalls auf Pilocarpin hin abgesondert wird. Die erhaltenen Resultate lassen sich dahin zusammenfassen, daß nach Durchschneidung der Chorda sowohl der Ges.- wie auch der Rest-N im Speichel sich vermehren. Der Koeffizient Rest-N : Ges.-N nähert sich dem nach der Exstirpation des Ganglion erhaltenen. Dessenungeachtet ist solcherart vorgenommenen Versuchen keine entscheidende Bedeutung beizulegen, wegen der oben erwähnten nach der Chordadurchschneidung auftretenden Atrophie der Drüse.

In Zusammenfassung aller angeführten Ergebnisse können wir vorerst auf den Umstand hinweisen, daß dem sympathischen Nerv zweifellos eine hervorragende Bedeutung in der Regulation des Stickstoffgleichgewichts des Speichels zukommt. Dieses Gleichgewicht wird durch den Ges.-N des von der Drüse erzeugten Muzins und den Rest-N gebildet, der, wie wir sehen, fast ausschließlich von dem aus dem Blute in das Sekret übergehenden Harnstoff gebildet wird. In den Fällen mit exstirpierten oberen Halsganglien erhalten wir eine allmählich sich entwickelnde, dauernd sich erhaltende, deutlich ausgesprochene Verminderung des Rest-N, während die Menge des Ges.-N sich nur wenig ändert. Diese Erscheinung dürfen wir nicht auf eine Funktionsherabsetzung der Drüse selbst setzen und sie daher als Folge einer Verminderung der Zellpermeabilität erklären, da ja die quantitativen Verhältnisse der Sekretion in allen Fällen ein und dieselben geblieben waren; es änderte sich bloß die Zusammensetzung des Sekrets.

Die oben angeführten Versuche mit intravenösen Harnstoffinjektionen überzeugen uns hiervon nur noch mehr (Tabelle V).

Wenn die Tatsache der mitunter mehr als zweifachen Ausscheidung des Rest-N durch die Drüse infolge Beraubung der Drüse ihrer sympathischen Innervation wirklich als Resultat einer Veränderung der Permeabilität der Zelle gegenüber dem Harnstoff erscheint, so müssen wir bei Belastung des ganzen Organismus mit Harnstoff einen noch deutlicheren Unterschied in seiner Ausscheidung unter normalen und pathologischen Verhältnissen erhalten.

Es ist nicht überflüssig, darauf hinzuweisen, daß *Schill* und *Kunze* das Verschwinden von gesunden Leuten injizierten Harnstoffs aus dem Blute bereits in den ersten Minuten nach der Injektion beobachteten, während der Rest-N im Blute unverändert blieb. Im Speichel, der die Zellprozesse in dem Gangl. cervic. sup. widerspiegelt, müssen wir nach der Einführung von Harnstoff im Blute eine erhöhte Ausscheidung von ihm wiederfinden.

Wie aus der beigefügten Tabelle zu ersehen ist, ist die Menge des Rest-N bei einer solchen Belastung im Sekret der normal innervierten Drüse deutlich erhöht, was durchaus nicht von der ihrer sympathischen Innervation beraubten Drüse behauptet werden kann.

In den übrigen hier nicht angeführten Versuchen an den Hunden 5 und 7 (s. Abb. 2 und 4) konnten wir nach der Injektion von Harnstoff im Sekret der normalen Drüse eine ebensolche Vermehrung an Rest-N beobachten und im Sekret der ihrer sympathischen Innervation beraubten Drüse noch weniger als in dem angeführten Versuch.

Schlußfolgerungen.

Nach allem Gesagten unterliegt es demnach keinem Zweifel, daß

1. der sympathische Nerv auf den Chemismus des von der Drüse erzeugten Sekrets hinsichtlich des Gehalts an Reststickstoff einwirkt und diese seine Funktion durch Regulation der Permeabilität des Gewebes verwirklicht, die ihrerseits wieder von einer Reihe physikochemischer Prozesse zu beiden Seiten der Zellmembran bedingt ist.

2. Die Versuche mit Injektionen von $Ca^{\cdot\cdot}$ sprechen noch deutlicher von der ausnehmenden Bedeutung der gestörten Funktion des sym-

pathischen Nerven auf die beschriebene Störung des Chemismus des Sekrets. Sie überzeugen uns davon, daß der Mechanismus dieser Störung in physiko-chemischen Veränderungen liegt, die durch die Exstirpation des Gangl. cervic. sup. zu beiden Seiten der Zellmembran hervorgerufen werden.

3. Die Tatsache der Verhaltung der Harnstoffausscheidung aus der ihrer sympathischen Innervierung beraubten Drüse in den Speichel wirft ebenfalls ein Licht auf eine Reihe pathologischer Zustände, die von der Klinik als Resultat einer Zurückhaltung von Reststickstoff im Organismus aufgefaßt werden und von dem angegebenen Standpunkt aus ihre Erklärung in den Erscheinungen eines verminderten sympathischen Tonus der Gewebe finden könnten.

Über die Einwirkung des Methylguanidins auf die Absonderung des Pankreassaftes und der Galle.

Von

R. Krimberg und **S. A. Komarow.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Riga.)

(Eingegangen am 22. Juni 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Nachdem es sich neuerdings erwiesen hatte, daß das Muskelgewebe in großer Menge Stoffe produziert, welche alle charakteristischen Eigenschaften der Hormone besitzen, und welche direkt ins Blut oder subkutan eingeführt, unter anderem auch die Speichel-, Magen- und Darmdrüsen zu ihrer spezifischen Arbeit im allgemeinen sehr stark anregen, war es natürlich von großem Interesse, auch die Arbeit der Bauchspeicheldrüse und der Leber in dieser Richtung zu untersuchen.

Die angestellten Versuche haben bereits ergeben, daß das Carnosin in bezug auf die äußere Sekretion der Pankreasdrüse augenscheinlich ohne irgendwelchen merkbaren sekretionserregenden Einfluß ist, daß aber das Methylguanidin ein in hohem Grade wirksames Pankreassekretin darstellt. Nach unseren Beobachtungen sind die Mengen des Pankreassaftes, welche bei Hunden nach Einverleibung des Methylguanidins in Gaben bis 4,5 cg pro Kilogramm Gewicht abgeschieden werden, nicht selten sogar größer als diejenigen Mengen dieses Saftes, welche durch bereits stark toxische Gaben eines aus der Darmschleimhaut gewonnenen Sekretinpräparats gewöhnlich erhalten werden können. Ein näherer Vergleich der Wirkungskraft beider Erreger ist zurzeit selbstverständlich nicht möglich, weil ja das aus der Darmschleimhaut dargestellte Sekretin noch immer eine in chemischer Hinsicht unbekannte Substanz bleibt.

Da das Methylguanidin ohne Zweifel ein präformierter Bestandteil des Muskelgewebes ist, und da sein Vorkommen auch im Blute und

im Harne ebenfalls sichergestellt ist, so liegt unseres Erachtens wohl kein Grund vor, demselben eine Beteiligung an der Arbeit der Bauchspeicheldrüse auch unter den normalen physiologischen Verhältnissen abzusprechen. Die Sekretionsdauer der Pankreasdrüse unter dem Einfluß des Methylguanidins ist stets eine vielmals größere als nach intravenöser Einführung des Sekretins, und erstreckt sich gewöhnlich sogar auf mehrere Stunden, ein Umstand, welcher für die physiologische Tätigkeit der Pankreasdrüse während der Verdauung sicher ein sehr günstiger sein dürfte.

Obwohl das Methylguanidin, wie bekannt, in ziemlich großer Menge im lebenden Muskel enthalten ist, so sind wir dennoch keineswegs geneigt, dasselbe als etwa den einzigen Sekretionserreger für die Bauchspeicheldrüse zu betrachten. Auf Grund einiger Beobachtungen sind wir vielmehr der Ansicht, daß nicht nur in dem weitverbreiteten Muskelsystem, sondern auch in manchen anderen Geweben, von der Darmschleimhaut ganz abgesehen, in bedeutenden Mengen Stoffe vorhanden sind, welche die Bauchspeicheldrüse auf humoralem Wege zur Sekretionsarbeit anzuregen imstande sind.

Infolgedessen würden wir uns erlauben, hier auf die von einem von uns schon vor längerer Zeit geäußerte Meinung über den intimeren Arbeitsmechanismus der Bauchspeicheldrüse kurz hinzuweisen[1]): Nach dieser Meinung wirkt die Säure des Magenchymus nicht durch Aktivierung eines Prosekretins in der Darmschleimhaut, sondern auf reflektorischem Wege, also gleich der ursprünglichen Ansicht *J. P. Pawlows*, auf die sekretorischen Zellen des Pankreas ein, jedoch mit dem Unterschied, daß der Erregungszustand der Nerven im Sekretionsprozeß nur insofern von Bedeutung ist, als erst dadurch die Plasmagrenzschicht der Drüsenzellen für die im Blute stets enthaltenen excitosekretorischen Hormone permeabel wird. Nach dieser Ansicht sind also die im Blute zirkulierenden und darin sogar auch im Hungerzustand stets vorhandenen excito-sekretorischen Hormone als die einzigen wirklichen Erreger aller Drüsenzellen zu betrachten. Es ist allerdings möglich, daß ein Teil dieser Hormone in den äußerst tätigen Drüsenzellen selbst weiter chemisch umgewandelt wird und auf solche Weise ihre dynamischen Fähigkeiten einbüßt, andererseits und wenigstens zum Teil erscheinen sie aber auch ganz sicher als Bestandteile der Sekrete und Exkrete[2]).

Schließlich, was die Absonderung der Galle anbelangt, so hat sich das Methylguanidin auch in dieser Hinsicht als ein sehr wirksames und

---

[1]) *R. Krimberg*, Die Hormone, S. 25. Charkow 1918.
[2]) *Derselbe*, diese Zeitschr. **157**, 196, 1925.

in seiner eventuellen physiologischen Bedeutung dem Darmsekretin durchaus nicht untergeordnetes Agens erwiesen.

Um den Einfluß des Methylguanidins auf die Absonderung des Pankreassafts und der Galle zu studieren, wurde eine Reihe von Vivisektionen an meistenteils 6 bis 7 Monate alten Hunden ein und desselben Wurfes unter Anwendung einer kombinierten Morphin-Chloroform-Äther- oder Chloralhydrat-Äthernarkose ausgeführt. Im ersteren Falle wurde dem Hunde etwa 1 Stunde vor dem Anfang der Vivisektion 0,015 bis 0,02 g Morphin. hydrochl. pro 1 kg Körpergewicht subkutan appliziert, wonach weitere Vertiefung und Aufrechterhaltung der Narkose durch Aspiration einer Mischung von Chloroform und Äther (1 : 10) erzielt wurde; im anderen Falle wurden pro 1 kg Körpergewicht 0,15 bis 0,2 g Chloralhydrat (10proz. Lösung) in die V. jug. ext. etwa eine halbe Stunde vor dem Beginn der Vivisektion eingeführt, wobei die Unterhaltung der Narkose entweder durch Äther oder durch wiederholte Einverleibung des Chloralhydrats (nach je 2 bis 3 Stunden) erreicht wurde.

Die Vivisektionen wurden auf die folgende Weise ausgeführt. Durch einen Bauchschnitt entsprechend dem lateralen Rande des rechten M. rectus wird zuerst der Magenpylorus herausgehoben. An einer Stelle, die möglichst frei von sichtbaren Gefäßen ist, wird der Magen geöffnet, so daß der 4 bis 5 cm lange Schnitt etwa 1 bis 2 cm vom Duodenum beginnt und längs der Pylorusachse oralwärts verläuft. Der Magen wird mit Hilfe von Tampons gereinigt, und zwecks Isolierung der Magenhöhle vom Darm eine nur durch die Mucosa pylori greifende Beutelnaht möglichst nahe an der Plica pylorica angelegt. Die Anlegung dieser Naht wird in der Weise ausgeführt, daß jeder folgende Stich an der Stelle beginnt, wo die Nadel beim vorangehenden Stich herausgelangt ist, so daß am Ende der Seidenfaden rund um und unter der ganzen Pylorusschleimhaut durchgezogen erscheint, wodurch nach Zusammenziehung des Fadens eine tatsächliche tadellose Isolation der beiden Höhlen *bei vollständiger Erhaltung aller Nervenverbindungen zwischen dem Magen und dem Darm* erreicht wird. Zum Schluß dieses Teiles der Operation wird die Magenwunde mittels einer zweireihigen fortlaufenden Naht durch die Mucosa und die Serosa geschlossen. Endlich nach Unterbindung des Ductus cysticus und Exstirpation der Gallenblase wurden passende Kanülen in den Duct. choledochus und Duct. pancreaticus magnus, eventuell unter Schließung des Duct. pancreat. accessorius, sowie in die V. jug. ext. eingeführt und befestigt. Die Operationen wurden aseptisch durchgeführt. Während der Versuche, welche gewöhnlich mehrere Stunden in Anspruch nahmen, wurden die Tiere durch Einwicklung in Watte und mittels angewärmter Wasserflaschen vor Abkühlung geschützt.

Die Lösungen wurden durch die Kanüle in der V. jug. ext. injiziert. Man kann den Absonderungsverlauf des Pankreassaftes und der Galle sehr bequem beobachten, wenn man die entsprechenden Kanülen mittels weicher Gummiröhrchen mit Meßpipetten von 1 bis 2 bis 5 ccm Inhalt, in 0,01 bis 0,02 bis 0,1 ccm geteilt verbindet.

Zwecks Kontrolle und ganz besonders um die Funktionsfähigkeit des Ausführungsganges, sowie der Pankreasdrüse selbst zu prüfen, wurde jedesmal am Anfang und am Ende des Versuchs Sekretin in das Blut eingeführt. Dasselbe wurde nach dem bekannten Verfahren von *Bayliss* und *Starling* aus der Schleimhaut der oberen Hälfte des Dünndarms und des

ganzen Zwölffingerdarms dargestellt, wozu gewöhnlich der beim vorangehenden Versuch angewandte Hund benutzt wurde. Die mit Sand zerriebene Schleimhaut wurde mit der vierfachen Menge n/10 Salzsäure über freiem Feuer aufgekocht, mit 10proz. Natronlauge bis zur schwach sauren Reaktion auf Lackmus versetzt und durch ein mit dünner Tierkohlenschicht bedecktes Filter abgesaugt. Die auf solche Weise erhaltene Flüssigkeit wurde von uns in den nächstfolgenden Versuchen stets angewandt; in unseren am Ende dieser Arbeit angeführten Versuchsprotokollen wird sie einfach als „Sekretin" bezeichnet.

Wir möchten hierbei jedoch nicht unerwähnt lassen, daß die von uns aus den Darmschleimhäuten verschiedener Hunde erhaltenen Sekretinlösungen nicht nur hinsichtlich ihrer physiologischen Wirkung, sondern auch nach ihrem Gehalt an Stickstoff sich als ziemlich konstant erwiesen haben. Die in großer Zahl ausgeführten Stickstoffbestimmungen nach *Kjeldahl* haben nämlich ergeben, daß die in 5 ccm der Sekretinflüssigkeit enthaltene Stickstoffmenge fast immer 3 bis 3,2 mg beträgt. Dies ist also die gewöhnliche von uns angewandte einmalige Dosis des Sekretinstickstoffs, da zwecks Einverleibung fast immer 5 ccm der Sekretinlösung genau abgemessen wurden.

Es wurden natürlich auch spezielle Kontrollversuche angestellt, um den eventuellen Einfluß der angewandten Narkose unter den von uns geschaffenen Versuchsbedingungen zu prüfen. Es erwies sich dabei, daß die oben erwähnten Narkotisierungsmittel bei der angegebenen Methodik Hunden an und für sich appliziert keine merkbare Steigerung der Sekretion weder aus der Pankreas- noch aus der Gallenfistel hervorrufen, und daß bei einer tieferen Narkose diese Sekretionen (gleichwie die saftreibende Wirkung des Darmsekretins) eher sogar gehemmt werden.

Zwecks Einverleibung wurden zwei Präparate des Methylguanidinnitrats verschiedener Herkunft verwandt. Das eine war von uns aus dem Kreatin durch Oxydation mit Quecksilberoxyd erhalten worden (F. 150°); das andere war aus dem *Liebig*schen Fleischextrakt dargestellt und fünfmal umkristallisiert worden (F. 150°).

Beide Präparate des Methylguanidinnitrats gelangten in Gaben von 0,085 bis 0,012 g = 45,6 bis 6,4 mg freie Base pro Kilogramm Körpergewicht zur Anwendung. Es wurde natürlich in jedem Versuch mit der Einführung des Methylguanidins erst dann begonnen, wenn die Wirkung des zu Kontrollzwecken injizierten Sekretins bereits vollständig zum Stillstand gelangt war. Es ist auch selbstverständlich, daß gleich nach Einführung des Sekretins alle Spuren desselben aus der Kanüle und der V. jug. ext. durch Nachspülung entfernt werden mußten, wozu eine 0,85proz. Natriumchloridlösung benutzt wurde.

Fast in allen bis jetzt ausgeführten Versuchen konnten wir qualitativ eine erheblich stimulierende Wirkung des Methylguanidins nicht nur auf die Sekretion des Pankreassafts, sondern auch auf die Exkretion der Galle feststellen. In quantitativer Hinsicht jedoch konnte nach Einverleibung ein und derselben Dosis der Substanz durchaus nicht immer das gleiche Wirkungsbild beobachtet werden. In der Mehrzahl der Fälle riefen Gaben von 0,085 bis 0,033 g Methylguanidinnitrat pro Kilogramm Gewicht, wie aus den angeführten Versuchsprotokollen

ersichtlich, eine sehr beträchtliche Sekretion des Pankreassaftes und der Galle hervor, welche manchmal die sogar nach Anwendung bereits stark toxischer Sekretingaben (starke Senkung des Blutdrucks bis zum Verschwinden des Pulses) erzielte Absonderung dieser Säfte recht bedeutend übersteigt. In diesen Fällen nimmt die anfangs sehr spärliche spontane Abscheidung des Pankreassaftes in kurzer Zeit, gewöhnlich nach Ablauf von etwa 7 bis 20 Minuten nach der Injektion, zu; dabei geschieht dies jedoch so allmählich, daß eine genauere Feststellung der Dauer der Latenzperiode nicht selten beinahe unmöglich wird.

Es darf hieraus jedoch in keinem Falle der Schluß gezogen werden, daß die Latenzperiode der excitosekretorischen Wirkung des Methylguanidins auf die Pankreasdrüse unter den normalen physiologischen Verhältnissen während der Verdauung eine ebenfalls nicht weniger lange sein müßte. Wie schon oben hingewiesen, dürfte der Wirkungsmechanismus des im Blute zirkulierenden Methylguanidins während der Verdauung sich von seinem Wirkungsmechanismus im Tierexperiment wohl dadurch nicht unwesentlich unterscheiden, daß im letzteren das Hormon in größerer Menge ins Blut eingeführt werden muß, um dadurch demselben die Möglichkeit zu verleihen, die betreffenden Nervenelemente vom Blute aus in den für die Sekretion notwendigen Erregungszustand zu versetzen, während im normalen Verdauungsprozeß die Erregung der Nervenelemente durch die Säure, Neutralfette und Seifen, also durch ganz andere Erreger von der Darmschleimhaut aus besorgt wird. Die Konzentration des Hormons im Blute nach Nahrungsaufnahme brauchte also durchaus nicht ebenso groß zu sein wie im Tierexperiment, damit es in die Drüsenzellen hineindringen und dieselben zur sekretorischen Arbeit erregen könnte. Der Wirkungsmechanismus der excitosekretorischen Hormone im Tierexperiment dürfte vielleicht nur mit demjenigen bei der sogenannten periodischen Sekretion eine gewisse Analogie aufweisen[1]). Aber die Verhältnisse bei der Auslösung der Sekretion in den beiden Fällen können dennoch keineswegs als vollständig gleiche betrachtet werden, zum Teil schon deswegen nicht, weil es sich bei der periodischen Sekretion sicher um eine kombinierte Einwirkung eines qualitativ und quantitativ bestimmten natürlichen Hormongemisches handelt.

Die unter dem Einfluß des Methylguanidins einmal in Gang gekommene Absonderung des Pankreassaftes verstärkt sich langsam, aber sicher, und wird oft schon während der ersten Stunde ziemlich bedeutend. Ihren Höhepunkt erreicht die Sekretion manchmal schon in der ersten Stunde, manchmal aber auch in der zweiten, dritten oder sogar in der vierten Stunde nach Einverleibung des Methylguanidins. Nicht immer gelingt es auch unter den Bedingungen eines akuten Versuchs, die wirkliche Sistierung der Sekretion abzuwarten, denn zuweilen dauert dieselbe auch noch sogar nach Ablauf von 6 Stunden in ziemlich lebhaftem Tempo fort. Dabei ist noch zu bemerken, daß das Ende der excitosekretorischen Wirkung des Methylguanidins auf die Pankreasdrüse, ebenso wie ihr Anfang, meistenteils nicht scharf ausgeprägt ist. Sehr

[1]) *R. Krimberg*, diese Zeitschr. **157**, 195, 1925.

oft werden am Ende seiner Wirkung etwa 30 bis 40 Minuten dauernde Ruheperioden der Drüse beobachtet, welche durch etwa ebenso lange Perioden merklicher Sekretionssteigerung abgelöst werden.

Im Vergleich mit der Sekretinwirkung ist die Dauer der excitosekretorischen Wirkung des Methylguanidins auf die Pankreasdrüse also eine sehr große, und wie schon oben erwähnt, gerade dieser Umstand scheint uns in physiologischer Hinsicht von ganz besonderem Wert zu sein.

Wie schon im Anfang hingewiesen wurde, konnten wir fast in allen Versuchen auch noch eine nebenbei verlaufende gesteigerte Gallenausscheidung nach Einverleibung des Methylguanidins konstatieren. In einer sehr großen Mehrzahl der Fälle (in etwa 80 Proz. aller Versuche) waren die Mengen der ausgeschiedenen Galle sogar viel beträchtlicher als diejenigen, welche man nach Einführung bereits toxischer Sekretingaben gewöhnlich erhalten kann. Die erhöhte Ausscheidung der Galle, welche man nach Einverleibung von 85 bis 33 mg Methylguanidinnitrat pro Kilogramm Gewicht also fast regelmäßig beobachten kann, erstreckt sich, ebenso wie die Sekretion des Pankreassaftes, meistenteils auf mehrere Stunden; ihr Maximum wird jedoch in der Mehrzahl der Fälle erst während der dritten oder vierten Stunde nach der Injektion des Methylguanidins erreicht.

Die unter Methylguanidinwirkung erhaltene Sekretionskurve des Pankreassaftes stellt eine Zackenlinie dar, wobei die Steigerung der Pankreassekretion und die Steigerung der Gallenausscheidung durchaus nicht immer streng parallel einander verlaufen. In einigen Versuchen, wie aus Abb. 1 deutlich zu ersehen ist, entsprechen zeitlich den Perioden

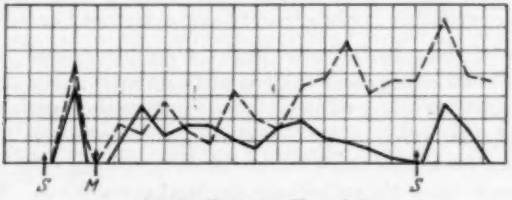


Abb. 1. Kurven zu Versuch 1.

Eine Teilung auf der Abszisse entspricht 15 Minuten. Eine Teilung auf der Ordinate entspricht 0,5 ccm Pankreassaft und 0,1 ccm Galle.

—— Absonderung des Pankreassaftes.
----- Exkretion der Galle.
S Injektion von 5 ccm Sekretin.
M Injektion von 0,3 g Methylguanidinnitrat.

der intensiveren Absonderung des Pankreassaftes auffallenderweise gerade die Perioden einer verhältnismäßig langsamen Exkretion der Galle, und umgekehrt.

Es muß noch hinzugefügt werden, daß am Ende aller unserer Versuche bei der Obduktion der Magen stets einige Quantität saure Flüssigkeit (Congo positiv) enthielt. In einigen Versuchen aber, wo nach Einverleibung der von uns gewöhnlich angewandten Gaben von salpetersaurem Methylguanidin geringe oder (in einem hier nicht näher angeführten Versuch) keine Absonderung weder des Pankreassaftes noch der Galle beobachtet werden konnte, mußte die Sekretion im Magen eine sehr beträchtliche gewesen sein, weil gerade in diesen Fällen die Mengen der im Magen gefundenen sauren Flüssigkeit ganz besonders große waren (120 bis 130 ccm); die Gesamtacidität der Magenflüssigkeit, sowie ihr Gehalt an freier Salzsäure waren ebenfalls hoch (Gesamtacidität = 93 bis 142; freie Salzsäure = 74 bis 140).

Nach unseren sehr zahlreichen Versuchen ist das Methylguanidin im allgemeinen ein höchst wirksames Hormon, welches vom Blute aus unter anderem alle Drüsen des Verdauungstraktus sekretionserregend aufs mächtigste beeinflussen kann. Unter normalen physiologischen Verhältnissen bei der Verdauung wird seine Einwirkung auf die verschiedenen Drüsen, gleichwie diejenige anderer im Blute zirkulierender excito-sekretorischen Hormone, auf reflektorischem Wege und zum großen Teile nämlich von der Schleimhaut des Verdauungstraktus aus reguliert. Im Tierexperiment jedoch, wo das Methylguanidin direkt ins Blut injiziert wird, und bei leerem Magen (periodische Sekretion) bleibt diese Regulierung der Hormonwirkung seitens der Schleimhaut des Verdauungstraktus aus. Hauptsächlich durch diesen Umstand erklärt sich unserer Meinung nach die soeben erwähnte Tatsache, daß ein Hormon, wie das Methylguanidin, welches z. B. auf die Pankreasdrüse sehr stark excito-sekretorisch einzuwirken unzweifelhaft imstande ist, und unter physiologischen Verhältnissen allem Anschein nach auch tatsächlich auf dieselbe einwirkt, im Tierexperiment dagegen, und ganz besonders in einem akuten, nach direkter Einführung ins Blut, die betreffende Drüse nicht selten bedeutend schwächer, zuweilen sogar überhaupt nicht angreift, dabei seinen sekretionserregenden Einfluß jedoch zum größten Teile auf andere Drüsen ausübt. Auf welche Drüse aber der hormonale Reiz im gegebenen Falle sich vorzugsweise richtet, dies hängt natürlich von sehr verschiedenen Bedingungen ab, unter welchen die Natur des Hormons und seine Konzentration im Blute, die Natur der Drüse, die Art der Narkose und die operativen Eingriffe, der jeweilige Zustand der betreffenden Nervenelemente, sowie der Drüsenzellen selbst ganz besonders hervorzuheben wären.

Versuch 1.

Hund ♀, 4 kg, etwa 6 Monate alt.
Um 9h15' morg. injiziert 0,095 g salzsaures Morphin (2proz. Lös.) subkutan.
Operation beendet um 11h30'.

Zeit	Pankreassekretion		Gallensekretion		Bemerkungen
	in je 15 Min. ccm	in je 1 Stde. ccm	in je 15 Min. ccm	in je 1 Stde. ccm	
12h25'	—		—		Beginn der Beobachtung
12 40	0,025		0,115		
12 42	0		0		Inj. 5 ccm Sekretin (3,2 mg Stickstoff)
12 44	↗		↗		
12 59	1,55		0,36		
1 09	0,06		0,11		
1 14	0		0		
2 02	—		—		Inj. 5 ccm Sekretin (3,2 mg Stickstoff)
2 03	↗		↗		
2 18	1,75		0,44		
2 28	0,07		0,10		
2 33	0		0		Inj. 0,3 g salpetersaures Methylguanidin (5proz. Lösung)
2 38	0		0,015		
2 40	↗		+		
2 48	0,43		0,16	0,725	
3 03	1,21	3,14	0,135		
3 18	0,64		0,28		
3 33	0,86		0,15		
3 48	0,85		0,09		
4 03	0,53	2,50	0,33	0,79	
4 18	0,32		0,21		
4 33	0,80		0,16		
4 48	0,91		0,35		Inj. 0,03 g salzsaures Morphin (2 proz. Lösung) subkutan
5 03	0,57	2,36	0,38	1,60	
5 18	0,50		0,55		
5 33	0,38		0,32		
5 48	0,16		0,37		
6 03	0,05		0,37		
6 05	—		—		Inj. 5 ccm Sekretin (3,2 mg Stickstoff)
6 07	↗		↗		
6 22	1,35		0,64		
6 37	0,8		0,39		
6 42	0,05		0,37		Ende der Beobachtung

Versuch 2.

Hund ♂, $5^1/_2$ kg, etwa 6 Monate alt.

Um 9h morgens injiziert 0,09 g salzsaures Morphin (2proz. Lös.) subkutan.

Operation beendet um 11h.

D. pancreat. accessorius verbunden.

Zeit	Pankreassekretion		Gallensekretion		Bemerkungen
	in je 15 Min. ccm	in je 1 Stde. ccm	in je 15 Min. ccm	in je 1 Stde. ccm	
11h30′	—		—		Beginn der Beobachtung
11 45	0,015		0,34		
11 55	0,005		0,20		Inj. 5 ccm Sekretin (3 mg Stickstoff)
11 57	↗		↗		
12 12	2,10		1,20		
12 22	0,09		0,71		
12 27	0		0,31		
12 29	0		0,19		Inj. 0,18 g salpetersaures Methylguanidin (5proz. Lösung) intravenös
12 50	↗		1,1		
1 05	0,03	0,04	0,7	3,3	
1 20	0,005		0,9		
1 35	0,005		0,6		
1 50	0,14		0,85		
2 05	0,29	0,76	0,8	2,97	
2 20	0,21		0,72		
2 35	0,12		0,6		
2 50	0,11		0,63		
3 05	0,1	0,33	0,71	2,68	
3 20	0,07		0,79		
3 30	0,03		0,55		
4 30	—	0,12	—	4,1	
4 45	0,02		0,8		
5 00	0,03	0,08	0,7	2,7	
5 15	0,03		0,8		
5 23	0,01		0,4		Inj. 5 ccm Sekretin (3 mg Stickstoff)
5 38	2,8		1,1		
5 53	0,54		0,69		
5 58	0,02		0,18		Ende der Beobachtung

Versuch 3.

Hund ♂, 14 kg. Um 9h 30′ injiziert 2,0 g Chloralhydrat (10proz. Lösung) intravenös. Operation beendet um 11h.

Zeit	Pankreassekretion		Gallensekretion		Bemerkungen
	in je 15 Min. ccm	in je 1 Stde. ccm	in je 15 Min. ccm	in je 1 Stde. ccm	
12h15′	—		—		Beginn der Beobachtung
12 30	0		2,1		Inj. 15 ccm Sekretin
12 31	↗		—		
12 45	1,8		3,4		
1 00	2,3		2,6		
1 15	0,17		2,1		
1 30	0,05		2,1		
1 35	0		+		Inj. 0,5 g salpetersaures Methylguanidin (5proz. Lösung)
1 45	0,03		2,4		
2 00	0,04	0,2	2,7	10,6	
2 15	0,045		2,8		Inj. 0,5 g Chloralhydrat (10proz. Lösung) intravenös
2 30	0,085		2,7		
2 45	0,13		2,9		
3 00	0,05	0,31	3,1	11,1	
3 15	0,05		2,1		
3 30	0,08		3,0		
3 45	0,09		3,5		
4 00	0,17	0,63	3,3	13,6	
4 15	0,18		3,3		
4 30	0,19		3,5		
4 45	0,27		3,3		
5 00	0,19	0,72	2,5	11,1	
5 15	0,15		2,7		Inj. 0,5 g Chloralhydrat (10proz. Lösung) intravenös
5 30	0,11		2,6		
5 45	0,08		2,8		
6 00	0,06	0,40	2,8	11,2	
6 15	0,09		2,8		
6 30	0,17		2,8		
6 45	0,09		3,1		Inj. 0,5 g Chloralhydrat (10proz. Lösung) intravenös
7 00	0,22	0,49	2,3	10,5	
7 15	0,11		1,9		
7 30	0,07		3,2		
7 32	—		—		Inj. 15 ccm Sekretin
7 45	2,24		3,8		
7 50	0,10		—		
7 55	0,05		—		
8 00	0,02		2,7		Ende der Beobachtung

Versuch 4.

Hund ♀, 7 kg.

Um 8h 30′ morg. injiziert 0,08 g salzsaures Morphin (2proz. Lös.) subkutan. Operation beendet um 10h 30′.

Zeit	Pankreassekretion		Gallensekretion		Bemerkungen
	in je 15 Min. ccm	in je 1 Stde. ccm	in je 15 Min. ccm	in je 1 Stde. ccm	
12h 15′	—		—		Beginn der Beobachtung
12 30	0		1,5		
12 45	0		1,4		
12 48	—		—		Inj. 10 ccm Sekretin (6 mg Stickstoff)
12 50	↗		—		
1 05	1,8		2,6		
1 20	0,18		2,4		
1 35	0		2,4		
1 50	0	0,04	1,5	9,0	Langsame, etwa 1 Stunde währende intravenöse Injektion von 0,5 g salpetersaurem Methylguanidin, gelöst in 250 ccm 0,85proz. Na Cl
2 05	0,01		1,8		
2 20	0		2,5		
2 35	0,03		3,2		
2 50	0,03	0,09	1,8	10,0	
3 05	0,02		3,0		
3 20	0,02		2,6		
3 35	0,02		2,6		
3 50	0,03	0,14	2,4	9,1	
4 05	0,04		2,4		
4 20	0,04		2,4		
4 35	0,03		1,9		
4 50	0,04	0,10	1,9	6,6	
5 05	0,03		0,7		
5 20	0,02		2,1		
5 35	0,01		1,9		
5 50	0,01		1,5		Obduktion, im Magen 120 ccm reinen Magensaftes (Gesamtacidität = 142; freie HCl = 140)

Photoaktivitätsstudien.

V. Mitteilung:

Die Beziehungen zwischen photographischer und antirachitischer Wirksamkeit.

Von

H. Vollmer und **J. Serebrijski.**

(Aus dem Kaiserin-Auguste-Victoria-Haus, Charlottenburg.)

(Eingegangen am 23. Juni 1926.)

I.

Bei den früher beschriebenen photographischen Phänomenen handelt es sich — wie bereits angedeutet — nicht um Strahlenwirkungen, sondern um chemische Umsetzungen, welche in gasförmigen Aggegratzustand übergehende Bestandteile der exponierten Substanzen auf der Bromsilberschicht der photographischen Platte auslösen. Denn sowohl durch eine Glas- als auch durch eine Quarzscheibe, welche Substanz und Plattenschicht trennen, werden die Photoaktivitätseffekte aufgehoben. Auch Celloidinpapier zeigt keine Reaktion auf die als „photoaktiv" beschriebenen Stoffe.

Der Natur dieser Erscheinungen nachgehend, haben wir zunächst eine Reihe chemisch reiner Körper auf ihre Photoaktivität geprüft. Auf diese Weise war es leichter als bei den früher untersuchten chemischen Gemischen (tierische und pflanzliche Produkte) zu übersehen, ob bestimmte chemische Konstitutionen bzw. bestimmte Gruppen im Molekül zur photographischen Wirksamkeit oder Aktivierbarkeit disponieren.

Photographische Wirkung besitzen oder erlangen (vgl. Tab. I) durchweg leicht oxydable Verbindungen, die auf Grund ihres ungesättigten Charakters unter der Einwirkung ultravioletter Strahlen leicht die Atomgruppen —O—O— oder —O—O—O— anlagern und Peroxyde oder Ozonide (Harries) bilden können. Die Kohlenstoffdoppelbindung scheint zu

Tabelle I.

Substanz	Photographische Wirkung		Jodkaliumstärkereaktion der bestrahlten Substanz
	unbestrahlt	bestrahlt	
Einwertige Alkohole.			
Äthylalkohol	—	++	+++
Propylalkohol	+	+++	+++
Amylalkohol	—	+++	+++
Octylalkohol	++	+++	+++
Benzylalkohol	—	+++	+++
Cetylalkohol	—	+++	+++
Dreiwertige Alkohole.			
Glycerin	—	—	—
Alkoholate.			
Natriumäthylat	—	—	
Hydroxylverbindungen der aromatischen Kohlenwasserstoffe.			
Phenol	±	++	+++
Brenzcatechin	—	—	
Resorcin	—	—	
Pyrogallol	—	—	
Phloroglucin	—	—	
Gesättigte Kohlenwasserstoffe.			
Petroleumäther	—	—	
Naphtha	—	—	
Petroleum	—	—	
Vaseline	—	—	
Paraffin	—	—	
Gesättigte einbasische Fettsäuren.			
Essigsäure	—	—	
Buttersäure	—	—	
Caprylsäure	—	—	
Myristinsäure	—	—	
Palmitinsäure	—	—	
Gesättigte zweibasische Fettsäuren.			
Oxalsäure	—	±	+
Bernsteinsäure	—	—	
Ungesättigte Fettsäuren.			
Ölsäure	++	+++	+++
Leinölsäure	++	+++	+++
Ricinolsäure	—	+++	+
Oleinsaures Natrium	—	++	++
Ungesättigte zweibasische Säuren.			
Fumarsäure	—	—	
Maleinsäure	—	—	
Ungesättigte Säuren mit ungesättigter Seitenkette.			
Zimtsäure	—	—	
Piperinsäure	—	—	
Oxysäuren.			
Milchsäure	—	+	+
Weinsäure	—	—	—

Tabelle I (Fortsetzung).

Substanz	Photographische Wirkung		Jodkaliumstärkereaktion der bestrahlten Substanz
	unbestrahlt	bestrahlt	
Aromatische Oxysäuren.			
Salicylsäure	—	—	
Protocatechusäure . . .	—	—	
Gallussäure	—	—	
Aldehyde.			
Benzaldehyd	+	++	++
Zimtaldehyd	++	+++	+++
Salicylaldehyd	—	—	
Vanillin	—	—	
Ketone.			
Aceton	—	—	
Cholesterine und Derivate.			
Cholesterin	+	+++	+++
Palmitinsaures Cholesterin	—	—	+++
Dibromcholesterin . . .	—	—	
Cholsäure	—	—	

einer derartigen Substitution unter Aufgabe der Doppelbindung besonders bereit zu sein. Aber sie ist — wie die einwertigen Alkohole zeigen — keineswegs die einzige Gruppe, welche zu dieser intramolekularen Umlagerung fähig ist. Und andererseits lassen sich nicht alle Substanzen mit einer Kohlenstoffdoppelbindung durch Bestrahlung in Peroxyde oder Ozonide überführen und photographisch wirksam machen. So erfährt z. B. die Fumarsäure unter dem Einfluß ultravioletter Strahlen lediglich eine Transformation aus der trans- in die cis-Stellung; es resultiert die Maleinsäure, die sehr stabil und in der Doppelbindung nicht mehr aufspaltbar ist; dem entspricht die photographische Unwirksamkeit bestrahlter Fumarsäure. Die Photoaktivierbarkeit ist also nicht an eine bestimmte, sondern sie kann an verschiedene Gruppen gebunden sein, vorausgesetzt, daß diese Gruppe im Molekül wirklich reaktionsfähig ist.

Worauf beruht nun die *photographische Wirksamkeit* derartiger Verbindungen? Ein latentes Lichtbild, das sich im photographischen Entwickler schwärzt, kommt durch *Reduktion* der Silberhaloidschicht zustande. Peroxyde und Ozonide geben bei ihrem Zerfall Sauerstoffatome ab, die unmöglich diese Reduktion unmittelbar bedingen können. Aber bekanntlich führt auf diese Weise frei gewordener aktiver Sauerstoff in Gegenwart von H_2O (Luftfeuchtigkeit) zur Wasserstoffsuperoxydbildung *(Harries)*. Und H_2O_2 ist, wie wir früher sahen und von

Russel zuerst beschrieben wurde, stark photoaktiv. Wasserstoffsuperoxyd kann durch Abgabe naszierenden Wasserstoffs reduzierend wirken. So wird uns seine Photoaktivität verständlich. Da nun tatsächlich in einer Reihe photoaktiver Substanzen die Gegenwart von H_2O_2 nachgewiesen wurde, kommen wir zu folgendem Schluß: *Verbindungen, die schon in unbestrahltem Zustand photographisch wirksam sind, sind es offenbar infolge ihres H_2O_2-Gehalts; solche, die erst durch Bestrahlung photoaktiv werden, werden es durch sekundäre H_2O_2-Bildung beim Zerfall der durch Bestrahlung entstandenen Oxydationsprodukte. Der Photoeffekt ist eine Wirkung aktiven Wasserstoffs.*

II.

Die „Photoaktivität" wäre für das Rachitisproblem völlig bedeutungslos, wenn sich zwischen *photographischer* und *antirachitischer* Wirksamkeit keine Beziehungen aufweisen ließen. Die Möglichkeit solcher Beziehungen ist uns aber bereits nahegelegt worden durch das Zusammentreffen beider Wirkungen bei Lebertran, bestrahlten Pflanzenölen und bestrahltem Cholesterin, sowie durch das Verhalten des Paraffinöls, das photographisch und antirachitisch inaktiv ist. Es galt also diese Zusammenhänge weiter zu verfolgen und zu prüfen, *ob alle per os aufgenommenen, bisher als antirachitisch wirksam beschriebenen Stoffe zugleich photographisch wirksam sind.*

Nach den in unserer ersten Mitteilung niedergelegten Befunden ist dies nicht der Fall. Es gelang uns aber, bei den zunächst nicht photoaktiven Substanzen eine *photographische Wirksamkeit ihrer ätherlöslichen Bestandteile* nachzuweisen. Bei peroraler Zufuhr gelten im wesentlichen folgende Substanzen als antirachitisch wirksam:

1. Lebertran.
2. Bestrahltes Olivenöl *(Hess, Steenbock)*.
3. Bestrahltes Leinöl *(Hess, Steenbock)*.
4. Bestrahltes Cholesterin *(Hess, Steenbock, György)*.
5. Bestrahltes Sägemehl *(Hume-Smith)*.
6. Bestrahlte Kost Nr. 3143 *(Hess, Steenbock, Verfasser)*.
7. Bestrahlte Milch *(Cowell, György, Hess, Kramer)*.
8. Bestrahlte Haut *(Hess-György)*.
9. Exkremente bestrahlter Ratten (*Nelson-Steenbock* u. a.).

Die unter 1 bis 5 genannten Stoffe geben — wie wir mitgeteilt haben — ohne weiteres deutliche Platteneffekte. Bei bestrahltem Sägemehl wird diese Wirkung ungleich stärker, wenn man seine ätherlöslichen Bestandteile (Terpene) nach Entfernung des Äthers im Exsikkator der photographischen Platte aussetzt. Der mit Äther

extrahierte Rückstand des Sägemehls gewinnt durch Bestrahlung keine Photoaktivität mehr.

Die *bestrahlte Rattenkost* Nr. 3143 *(Mc Collum, Simmonds, Shipley, Park)*, bestehend aus 33 Proz. Mais, 33 Proz. Weizen, 15 Proz. Weizengluten, 15 Proz. Gelatine, 1 Proz. NaCl, 3 Proz. $CaCO_3$, erwies sich früher als photographisch unwirksam. Ihr von Äther befreiter ätherischer Extrakt besitzt jedoch eine deutliche Photoaktivität, die durch nachträgliche Bestrahlung noch erheblich gesteigert wird. Wie die Untersuchung der einzelnen Bestandteile ergab, kommt diese Eigenschaft in erster Linie den ätherlöslichen Bestandteilen der Maiskörner zu.

Ähnlich verhielten sich *bestrahlte Kuhmilch* und bestrahlte *Rattenhaut*, die ohne Vorbehandlung keine Photoeffekte ergeben. Ihre ätherlöslichen Bestandteile sind deutlich photographisch wirksam.

Die Gegenwart bestrahlter Ratten genügt bekanntlich, das Auftreten der Rachitis auch bei unbestrahlten Tieren zu verhüten. Diese Erscheinung ist kürzlich auf die Exkremente der bestrahlten Tiere zurückgeführt worden, denen eine antirachitische Wirksamkeit zugesprochen wurde *(Nelson-Steenbock)*. Wir fanden auch die *ätherlöslichen Bestandteile des Kotes und Harnes bestrahlter Ratten* ausgesprochen *photoaktiv*.

Selbstverständlich haben wir diese Untersuchungen unter Berücksichtigung der notwendigen Kontrollen ausgeführt. Wir können darum ausschließen, daß die Befunde durch Bestandteile des Äthers bedingt sind.

Alle antirachitisch wirksamen Körper enthalten demnach *photoaktive Stoffe*. Da die antirachitische Wirksamkeit kaum — wie die photographische — als eine Funktion des naszierenden Wasserstoffs zu verstehen ist, kann sie ihrem Wesen nach nichts mit der photographischen Wirksamkeit zu tun haben. Vielmehr kann die Photoaktivität nur eine Folge der chemischen Eigentümlichkeit sein, welche zur antirachitischen Wirksamkeit befähigt. Wir vermuten, daß die antirachitische Aktivität auf der *Fähigkeit* beruht, *aktiven Sauerstoff abzugeben*. Daß alle photoaktiven (vgl. Tabelle I) und alle antirachitisch wirksamen Stoffe diese Fähigkeit besitzen, beweist ihre *positive Jodkaliumstärkereaktion*. Die Jodabspaltung aus Jodkaliumlösung kann freilich auch das Sauerstoffatom leisten, das beim Zerfall des sekundär gebildeten H_2O_2 frei wird. Da wir aber nach unseren bisherigen Versuchen per os aufgenommenes Wasserstoffsuperoxyd antirachitisch unwirksam fanden, glauben wir, daß *nur derjenige aktive Sauerstoff für eine antirachitische Fähigkeit in Betracht* kommt, *der aus der intramolekularen Anlagerung an ungesättigte organische Verbindungen frei wird*. Die *antirachitische Aktivierung an sich unwirksamer Stoffe durch ultraviolette Strahlen* fassen wir als eine *Oxydierung, Peroxydierung oder Ozonisierung leicht oxydabler organischer Verbindungen* auf.

III.

Mit dieser Annahme lassen sich eine ganze Reihe von experimentellen Ergebnissen vereinbaren:

1. *Freudenberg* und *Klocmann* haben 1913 Versuche mit einem *Oxyprodukt des Lebertrans* angestellt. Sie oxydierten Lebertran mit H_2O_2 und Osmium als Katalysator und erhielten einen hochmolekularen Oxyfettsäureester, der bei Rachitis und Tetanie eine intensivere Heilwirkung zeigte als Phosphorlebertran. Was also bei Olivenöl und Leinöl durch Bestrahlung zu erzielen ist, wurde hier auf chemischem Wege am Lebertran erreicht: Die Einführung von Sauerstoffgruppen. *Freudenberg* und *Klocmann* weisen in diesem Zusammenhang auch bereits auf die leichte Oxydierbarkeit des Lebertrans hin, die u. a. auf dem Reichtum der Lebertranfettsäuren an Doppelbindungen beruht, und suchen damit die antirachitische Wirksamkeit des Lebertrans und besonders seines „Oxyproduktes" zu erklären.

Daß *sehr lange bestrahlter Lebertran* seine antirachitische Fähigkeit verliert, spricht nicht unbedingt gegen unsere Auffassung. Denn durch protahierte Einwirkung ultravioletter Strahlen können abgesättigte und stabile Verbindungen entstehen, die nicht mehr zerfallen.

2. *Stepp* und *Woenckhaus* fanden, daß unter den Lipoidstoffen in erster Linie dem *Cerebron* eine ausgesprochene *antirachitische Wirksamkeit* zukommt. Bei der Spaltung des Cerebrons entsteht nun nach *Thierfelder* neben Galaktose Cerebronsäure und Sphingosin. Die Cerebronsäure, $C_{24}H_{48}O_2$, ist eine gesättigte Fettsäure, die analog den von uns untersuchten nicht als aktiv anzunehmen ist. Sphingosin, $C_{17}H_{31}(OH)_2NH_2$, dagegen ist ein ungesättigter Aminoalkohol, der leicht oxydabel ist und Träger der antirachitischen Fähigkeit werden kann. Die Cerebronwirkung wird so erklärlich aus der Konstitution ihrer Spaltprodukte.

3. *György-Jenke-Popoviciu* haben die *antirachitische Aktivierbarkeit verschiedener Cholesterinpräparate* untersucht und sind in ähnlichen Gedankengängen wie wir von der Konstitution der Cholesterine ausgegangen. Wir stimmen mit ihnen vollkommen überein, wenn sie die antirachitische Aktivierbarkeit des Cholesterins auf das Vorhandensein reaktionsfähiger Gruppen (Doppelbindung, Hydroxylgruppe) im Molekül zurückführen und die Lichtwirkung auf das Cholesterin als eine Oxydation auffassen. Beweisend für die Richtigkeit dieser Auffassung ist die Tatsache, daß hydrierte Cholesterinderivate, in denen die Doppelbindung aufgehoben ist (β-Cholestanol, Pseudokoprosterin, Cholsäure), durch Quarzlampenbestrahlung keine antirachitischen Eigenschaften gewinnen *(György-Jenke-Popoviciu)*.

4. Die *antirachitische Aktivierbarkeit von Leinöl, Olivenöl, Erdnußöl, Baumwollsamenöl, Milch, Haut,* sogar *Sägemehl* ist nun leicht verständlich, da alle diese Stoffe Fette und Öle enthalten, deren Bestandteile reich an Doppelbindungen und außerordentlich leicht oxydabel sind (Alkohole und ungesättigte Fettsäuren). Es würde zu weit gehen, hier Einzelheiten anzuführen, wenn auch gerade hier die schönsten Bestätigungen für unsere Auffassung zu finden sind. Erwähnt sei nur — da die antirachitische Wirkung bestrahlten Sägemehls zu den kuriosesten Befunden zählt —, daß Holz *Terpenkörper* enthält, d. h. ungesättigte und leicht oxydable Verbindungen der Fettreihe, die wieder den Cholesterinfettsäureestern sehr nahestehen.

Es leuchtet nun ein, warum *Paraffinöl* weder antirachitisch noch photographisch zu aktivieren ist. Paraffin, ein gesättigter Kohlenwasserstoff, ist eine sehr stabile, nicht oxydable Verbindung, die mit den tierischen und pflanzlichen Fetten keinerlei Verwandtschaft aufweist.

Schließlich klärt sich die *Wirkung der direkten Höhensonnenbestrahlung als Oxydation oxydabler Hautbestandteile* (Fett, Cholesterin) *auf. Da die direkte Bestrahlung des Körpers der einzige Weg ist, körpereigenen Stoffen oxydierende Fähigkeit zu verleihen, wird es verständlich, warum sie in ihrer antirachitischen Wirksamkeit allen anderen Methoden weit überlegen ist.*

5. Nach *Zucker-Barnett-Pappenheimer* befindet sich das aktive Prinzip des Lebertrans in seiner *unverseifbaren Fraktion*, die der Gruppe der Sterine angehören soll. Das gleiche gilt für das „Unverseifbare" durch Bestrahlung aktivierten Oliven- und Leinöls *(Hess-Weinstock-Helman, Steenbock-Black)*. Diese Feststellungen bieten dem Verständnis Schwierigkeiten, solange man das „Unverseifbare" des Lebertrans mit cholesterinartigen Körpern identifiziert. Denn Cholesterine sind ja in unbestrahltem Zustand unwirksam, und nach *Nelson-Steenbock* beraubt Digitoninbehandlung, die zum mindesten den größten Teil der Cholesterine ausfällt, den Lebertran nicht seiner antirachitischen Fähigkeit. Wir müssen also im „Unverseifbaren" des Lebertrans neben den Cholesterinen andere, antirachitisch wirksame Körper annehmen und für ihre Existenz Beweise erbringen. Dies soll in der folgenden Mitteilung geschehen, in der gezeigt wird, daß *wässeriger Lebertranextrakt* sich im Tierversuch als *antirachitisch wirksam* erwies. Dieser Extrakt kann unverseifbare Bestandteile des Lebertrans enthalten, die aber — da sie wasserlöslich sind — keine cholesterinartige Körper sein können. Wir nehmen an, daß es sich um Oxydationsprodukte ungesättigter hochmolekularer Fettsäuren handelt.

In diesen Betrachtungen erblicken wir indirekte Beweise für die Richtigkeit unserer Auffassung vom antirachitischen Prinzip. Einen direkten Beweis für unsere Theorie erwarten wir von den Ergebnissen weiterer Untersuchungen. Wir prüfen chemisch reine Substanzen, welchen die für eine antirachitische Fähigkeit geforderten Eigenschaften zukommen (Ölsäure, Leinölsäure u. a.), auf ihre Wirksamkeit. Dabei ist aber folgendes zu bedenken. Diese Eigenschaften sind zwar notwendige Voraussetzung einer antirachitischen Aktivität, garantieren diese aber noch nicht. *Per os aufgenommene Stoffe können nur dann wirksam sein, wenn ihre oxydative Fähigkeit den Reaktionsbedingungen und Fermenteinflüssen im Magen-Darmkanal standhält und sich tatsächlich noch an der Zelle auswirken kann.* An die Zelle muß *aktiver* Sauerstoff herangebracht werden. Eingeatmetes Ozon etwa ist völlig unwirksam, da es ähnlich wie molekularer Luftsauerstoff lediglich der Oxyhämoglobinbildung dient. Welches Schicksal aber die Oxyde, Peroxyde und Ozonide im Magen-Darmkanal erfahren, ist bis zu einem gewissen Punkte am Fistelhund zu studieren.

Literatur.

Freudenberg-Klocmann, Jahrb. f. Kinderheilk. **78**, 47, 1913. — *György*, ebendaselbst **111**, 201, 1926. — *György-Popoviciu*, ebendaselbst **112**, 22,

1926. — *György-Jenke-Popoviciu*, ebendaselbst **112**, 35, 1926. — *Harries*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **37**, 839, 1904; **39**, 2844 und 3732, 1906. — *A. F. Hess*, Amer. Journ. of dis. of childr. **28**, 517, 1924. — *Hess-Weinstock*, Journ. Amer. Med. Assoc. **80**, 687, 1924; Journ. of biol. Chem. **62**, 301, 1924; **63**, **64**, 1925. — *Hess-Weinstock-Helman*, Proc. of the soc. of exper. biol. a. med. **22**, 76, 1924. — *Hume-Smith*, Biochem. Journ. **18**, 1334, 1924. — *Russel*, Eders Jahrb. f. Phot. 1898, S. 246; 1899, S. 9 und 500; 1900, S. 338; Chem. News 1899, S. 121; Phot. Rundschau 1899, S. 290; 1904, S. 274; Brit. Journ. of Phot. 1904, S. 726. — *Serebrijski-Vollmer-Zadek*, Zeitschr. f. Kinderheilk. **40**, 716, 1926. — *Steenbock-Black*, Journ. of biol. Chem. **61**, 405, 1925; **63**, 1925; **64**, 263, 1925. — *Steenbock-Nelson*, ebendaselbst **62**, 209, 1924; **64**, 299, 1925; **73**, 341, 1925. — *Stepp-Woenckhaus*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **111**, 149, 1926. — *Thierfelder*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **74**, 282, 1911; **77**, 508 und 511; 1912; **85**, 35, 1913. — *Vollmer*, diese Zeitschr. **172**, 467; **173**, 389 u. 467; **174**, 143, 1926.

Über proteolytische Fermente im Serum.

III. Mitteilung:
Über eine chemisch meßbare Toxin-Antitoxin-Bindung in vitro.

Von

Hans J. Fuchs und Frhr. **M. v. Falkenhausen.**

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts sowie der medizinischen Poliklinik der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 23. Juni 1926.)

Der eine von uns hat in früheren Mitteilungen[1]) über eine Methode berichtet, die einen quantitativen Nachweis von proteolytischen Fermenten im Serum gegenüber artfremdem Fibrin ermöglicht. Ebenso konnte er im Serum Carcinom- und Infektionskranker das Auftreten von solchen für die einzelnen Erkrankungen spezifischen Fermenten nachweisen.

Gemeinsame Arbeiten, über die später zu berichten sein wird, sind im Gange, um mit ähnlicher Methodik das Verhalten von Immunserum gegenüber Normalfibrin und umgekehrt chemisch meßbar zu differenzieren.

Bei Untersuchungen, die als Vorversuche unserer eigentlichen Fragestellung gedacht waren, ergaben sich nun Resultate, die wir einer besonderen Mitteilung für wert halten dürfen. Es handelt sich dabei um das lange umstrittene Problem der Toxin-Antitoxinbindung.

Bordet[2]), *Landsteiner* und *Jagic*[3]), *Zangger*[4]), *Biltz*[5]), *v. Krogh*[6]) u. a. faßten den Vorgang als einen rein physikalischen auf, und zwar als nach *variablen* Proportionen ablaufenden *Adsorptionsvorgang* zwischen zwei Kolloiden. Demgegenüber vertreten *Arrhenius*[7]) und vor allem *Ehrlich* den Standpunkt, daß das Wesen der Toxin-Antitoxinbindung in einer nach *feststehenden* Äquivalenten erfolgenden Absättigung *chemischer* Affinitäten

---

[1]) Diese Zeitschr. **170**, 76, 1926.
[2]) Ann. Inst. Pasteur. **17**.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1903.
[4]) Zentralbl. f. Bakt. **34**.
[5]) Zeitschr. f. physik. Chem. **48**.
[6]) Norsk. Mag. for. Läger 1911.
[7]) Arb. Kais. Gesundheitsamt **20**.

zu erblicken ist. Die *Ehrlich*sche Auffassung, die im einzelnen erhebliche Unterschiede gegenüber der von *Arrhenius* aufweist, wird bis heute als diejenige angesehen, die den recht komplizierten Verhältnissen am meisten gerecht wird.

Es ergab sich nun für uns die Möglichkeit, durch eine entsprechend modifizierte Anwendung der in den vorerwähnten Arbeiten des einen von uns geübten Methode die Richtigkeit der Vorstellungen von *Ehrlich* nachzuprüfen.

Die Methodik schließt sich — was Rest-N-Bestimmung betrifft — vollkommen an die in den oben erwähnten Arbeiten beschriebene an. Sämtliche Verdünnungen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht. Die zu untersuchenden Flüssigkeitsmengen wurden bei entsprechender Temperatur in einem mit Chloroformdampf erfüllten Standglas, das mit aufgelegter Glasplatte verschlossen war, gehalten.

Die Toxin-Antitoxingemische wurden mit Präzisionspipetten mit größter Sorgfalt und möglichster Beschleunigung hergestellt, worauf sofort die Enteiweißung von je 1,0 ccm des Gemisches erfolgte und die zu anderen Untersuchungen benötigten Mengen bereitgesetzt wurden.

Diphtherie- und Tetanustoxin wurde uns von der wissenschaftlichen Abteilung der Höchster Farbwerke in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle unseren aufrichtigsten Dank aussprechen möchten.

Die erste Frage war nun die, ob bei der Toxin-Antitoxinbindung die vorher festgestellte Summe des nicht koagulablen Stickstoffs von Toxin und Antitoxin eine Veränderung erleidet, die Schlüsse auf die Art des Bindungsvorgangs ermöglicht. Zu diesem Zwecke wurde zunächst der Rest-N-Gehalt von Toxin und Antitoxin für sich bestimmt, wobei sich ergab, daß der Rest-N-Gehalt der verwendeten Antitoxine ebenso wie beim Normalserum prozentual gering, dagegen bei den von Höchst zur Verfügung gestellten Toxinen der Rest-N fast vollständig mit dem Ges.-N übereinstimmte (s. auf Tabelle III und IV). Es wurde nun in wiederholten Versuchsreihen sowohl Tetanus- als auch Diphtherietoxin je mit Diphtherie- und Tetanusantitoxin angesetzt.

Die Einzelheiten der Versuche sind aus nachstehenden Tabellen I und II zu entnehmen.

Tabelle I.

A. 3,0 ccm Pferdetetanus-Antitoxin *Behring*, vierfach, + 0,01 ccm Tetanustoxin Höchst.

B. 3,0 ccm Pferdediphtherie-Antitoxin *Behring*, 300fach, + 0,01 ccm Tetanustoxin Höchst.

C. 3,0 ccm Pferdediphtherie-Antitoxin *Behring*, 300fach, + 0,01 ccm Diphtherietoxin Höchst.

D. 3,0 ccm Pferdetetanus-Antitoxin *Behring*, vierfach, + 0,01 ccm Diphterietoxin Höchst.

Davon:

1. je 1,0 ccm + 11,0 ccm 2,5proz. Trichloressigsäure *Merck*, 8,0 ccm Filtrat;
2. je 1,0 ccm 24 Stunden bei 40° C, dann wie unter 1.

	ccm n/200 H_2SO_4		
	sofort	24 Stunden 40° C	Differenz
A	4,78	4,48	— 0,30
B	4,64	4,68	+ 0,04
C	4,99	4,67	— 0,32
D	4,80	4,81	+ 0,01

Tabelle II.

A. 3,0 ccm Pferdetetanus-Antitoxin *Behring*, vierfach, + 0,1 ccm Tetanustoxin Höchst.

B. 3,0 ccm Pferdediphtherie-Antitoxin *Behring*, 300fach, + 0,1 ccm Tetanustoxin Höchst.

C. 3,0 ccm Pferdediphtherie-Antitoxin *Behring*, 300fach, + 0,1 ccm Diphtherietoxin Höchst.

D. 3,0 ccm Pferdetetanus-Antitoxin *Behring*, vierfach, + 0,1 ccm Diphtherietoxin Höchst.

Davon:

1. je 1,0 ccm + 11,0 ccm 2,5proz. Trichloressigsäure *Merck*, 8,0 ccm Filtrat;
2. je 1,0 ccm 24 Stunden bei 40° C, dann wie unter 1.

	ccm n/200 H_2SO_4		
	sofort	24 Stunden 40° C	Differenz
A	5,21	4,44	— 0,77
B	4,64	4,68	+ 0,04
C	5,26	3,60	— 1,66
D	4,71	4,74	+ 0,03

Es ist ersichtlich, daß bei A und C, wo die Toxine mit ihren spezifischen Antitoxinen zusammentreffen, ein erheblicher Rest-N-Schwund auftritt, wogegen bei B und D, wo sie sich kreuzen, eine außerhalb der möglichen Fehlergröße liegende Differenz des Rest-N vor und nach der Bebrütung nicht festzustellen ist. Hieraus läßt sich einwandsfrei der Schluß ziehen, daß erstens die Toxin-Antitoxinbindung sich streng spezifisch in Form eines Rest-N-Schwunds äußert, und daß sie zweitens einen chemischen Vorgang darstellt; der deutlich meßbare Rest-N-Schwund läßt sich nur dadurch erklären, daß die niedrigmolekularen Rest-N-Komponenten von Toxin und Antitoxin zu einem hochmolekularen Eiweißkörper zusammentreten, der mit Trichloressigsäure fällbar ist.

Die quantitativ differierenden Ergebnisse der mit verschiedenen Mengen von Toxin angestellten Versuche von Tabellen I und II lassen bereits vermuten, daß eine Proportionalität bei dem Chemismus der Bindung besteht. Offen bleibt hiernach zunächst noch die Frage, ob der Rest-N-Schwund in gleicher Weise Toxin und Antitoxin betrifft.

Die nächsten Untersuchungen hatten zunächst das Ziel, durch absteigende Reihen von Toxin und Antitoxin die Bindungsverhältnisse in quantitativer Hinsicht klarzustellen.

Die folgenden Tabellen III und IV geben die Einzelheiten und Resultate von Versuchsreihen, die unter diesem Gesichtswinkel angesetzt wurden, wieder. Ferner fügen wir im Anhang noch eine Anzahl Beispiele aus dem reichen Material an Protokollen bei.

Tabelle III.

A. Diphtherietoxin Höchst (1,0 ccm $^1/_{200}$ tötet ein Meerschweinchen von 250 g in 4 bis 5 Tagen).

B. Diphtherie-Antitoxin *Behring*, 300fach.

1. 3,0 ccm B + 3,0 ccm A.
2. 4,8 „ B + 1,2 „ A.
3. 5,4 „ B + 0,6 „ A.
4. 5,7 „ B + 0,3 „ A.
5. 5,85 „ B + 0,15 „ A.
6. 3,0 „ 5. + 3,0 ccm B.
7. 3,0 „ 6. + 3,0 „ B.

Davon

1. je 1,0 ccm + 11,0 ccm 2,5proz. Trichloressigsäure, 8,0 ccm Filtrat;
2. je 1,0 ccm 48 Stunden bei 40° C, dann wie 1.

	Gesamt-N	Rest-N	
1,0 ccm A	44,82	42,22	ccm n/200 H_2SO_4
1,0 ccm B	159,42	3,86	

	ccm n/200 H_2SO_4			
	sofort		48 Stunden 40° C gefunden	Differenz
	berechnet	gefunden		
1.	23,04	22,98	20,61	2,37
2.	11,53	11,51	7,73	3,78
3.	7,69	7,69	5,73	1,96
4.	5,74	5,74	4,78	0,96
5.	4,75	4,77	4,27	0,50
6.	4,29	4,31	4,04	0,27
7.	4,07	4,01	3,89	0,12
8.	3,94	3,93	3,86	0,07

Tabelle IV.

A. Diphtherietoxin Höchst (1,0 ccm $^1/_{200}$ tötet ein Meerschweinchen von 250 g in 4 bis 5 Tagen).

B. Diphtherie-Antitoxin *Behring*, 300fach.

1. 3,0 ccm A + 3,0 ccm B.
2. 4,8 „ A + 1,2 „ B.
3. 5,4 „ A + 0,6 „ B.
4. 5,7 „ A + 0,3 „ B.

Davon:

1. je 1,0 ccm + 10,1 ccm 2,5proz. Trichloressigsäure 8,0 ccm Filtrat.
2. je 1,0 ccm 48 Stunden bei 40° C, dann wie 1.

	Gesamt-N	Rest-N	
1,0 ccm A	44,77	41,36	ccm n/200 H_2SO_4
1,0 ccm B	163,48	3,88	

	ccm n/200 H_2SO_4			
	sofort		48 Stunden 40° C gefunden	Differenz
	berechnet	gefunden		
1.	22,62	22,71	20,33	2,38
2.	33,866	33,84	32,68	1,16
3.	37,612	37,66	37,19	0,47
4.	39,486	39,52	39,31	0,21

Eine Betrachtung der Tabelle III von Kolonne 2 ab sowie der Tabelle IV lehrt, daß sowohl bei den Toxin- als auch bei den Antitoxinverdünnungen nach Bindung eine Verringerung des Rest-N-Schwunds in gesetzmäßig-proportionaler Weise erfolgt. Wir dürfen darin eine chemische Stütze für die Richtigkeit des Gesetzes der Multipla, für das *Ehrlich* u. a. energisch eingetreten sind, erblicken.

Die Tatsache, daß die Verdünnung sowohl des Toxin- als auch des Antitoxinanteils des Gemisches proportionalen Abfall des Rest-N-Schwunds nach sich zieht, beweist ferner, daß *gleiche* Mengen des Rest-N- von Toxin und Antitoxin die Bindung vollziehen. Hierdurch finden wiederum die Beobachtungen von *Morgenroth*[1]) [sowie ähnliche von *Sachs*[2]) u. a.] ihre Bestätigung, dem es gelang, ein neutrales Gemisch

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1905.
[2]) Deutsch. med. Wochenschr. 1914.

von Kobragift mit seinem Antitoxin durch Erhitzen mit schwacher Salzsäurelösung wieder in seine beiden Komponenten zu zerlegen, eine Trennung, die ihm und *Willanen*[1]) später auch bei Diphtheriegift durch bloßen Salzsäurezusatz gelang.

Hiernach könnte der Einwand erhoben werden, daß auch die bei unseren Versuchen zur Enteiweißung verwendete 2,5proz. Trichloressigsäure durch teilweise Zerlegung der Bindung versuchsstörend wirkt. Zur Ausschaltung dieser Möglichkeit wurden mehrere Portionen des gleichen Toxin-Antitoxingemisches nach 48stündigem Verweilen im Brutschrank in der üblichen Weise mit Trichloressigsäure versetzt und nach verschieden langer Einwirkung filtriert (zwischen 5 und 60 Minuten Dauer). Danach fand sich bei allen Proben die gleiche Rest-N-Menge, so daß eine Störung der Versuchsbedingungen durch die Trichloressigsäure nicht in Frage kommen kann.

Bei oberflächlicher Betrachtung der Tabelle III scheint sich zunächst der Wert für den Rest-N-Schwund bei Kolonne 1, der trotz größerer Toxinmenge kleiner ist, als bei Kolonne 2, nicht in die besprochene Gesetzmäßigkeit einzufügen. Tabelle IV, die sich an Kolonne 1 von Tabelle III gewissermaßen nach der umgekehrten Richtung hin anschließt, bietet jedoch bei eingehenderer Überlegung den Schlüssel des zunächst auffälligen Phänomens. Auf Tabelle IV nämlich fällt der Rest-N-Schwund trotz weiterer Erhöhung der Toxinmenge gegenüber Kolonne 1 der Tabelle III weiter ab, entsprechend der Abnahme der Antitoxinmenge. Hieraus ergibt sich, daß bei Tabelle III Kolonne 1 der gegenüber Kolonne 2 geringere Rest-N-Schwund sich nur auf die zu geringe Antitoxinmenge beziehen kann, derzufolge der bindungsfähige Rest-N-Gehalt des Toxins nicht erschöpft ist. Auf Grund dieser Überlegung läßt sich auch die Höchstmenge an Rest-N berechnen, die vom Gesamt-Rest-N des Antitoxins mit dem Rest-N des Toxins eine Bindung eingeht. Da das Gemisch von Kolonne 1 der Tabelle III aus je 0,5 ccm Antitoxin und Toxin bestehen muß, beide aber an der Bindung zu gleichen Teilen mit ihrem Rest-N teilnehmen (wie sich aus Tabelle VII am klarsten zeigt), so entspricht die durch Diphtherietoxin Höchst bindbare Rest-N-Menge von 1,0 ccm des verwendeten Diphtherie-Antitoxins *Behring*, 300fach, 2,38 ccm n/200 H_2SO_4.

Die Frage, ob dieses Optimum der Rest-N-Bindung auch das Optimum der Entgiftung darstellt, bedarf noch der Beantwortung durch entsprechende Tierversuche. Hierüber, sowie über die eingangs erwähnten im Gange befindlichen Untersuchungen, zu denen die hier mitgeteilten nur die Vorversuche darstellen, werden weitere Mitteilungen berichten.

[1]) Arch. f. Pathol. **190**.

Anhang.

Tabelle V.

A. Diphtherietoxin Höchst.

B. Diphtherie-Antitoxin *Behring*, 300fach.

1. 2,0 ccm B + 1,0 ccm A.
2. 2,0 „ B + $^1/_2$. 1,0 ccm A.
3. 2,0 „ B + $^1/_3$. 1,0 „ A.
4. 2,0 „ B + $^1/_4$. 1,0 „ A.
5. 2,0 „ B + $^1/_5$. 1,0 „ A.
6. 2,0 „ B + $^1/_6$. 1,0 „ A.
7. 2,0 „ B + $^1/_7$. 1,0 „ A.

Davon:

a) je 1,0 ccm + 11,0 ccm 2,5proz. Trichloressigsäure, 8,0 ccm Filtrat;

b) je 1,0 ccm 48 Stunden bei 40° C, dann wie a.

	Gesamt-N	Rest-N	
1,0 ccm A	46,23	42,45	ccm n/200 H_2SO_4
1,0 ccm B	151,36	3,88	

	ccm n/200 H_2SO_4			
	sofort		48 Stunden 40° C gefunden	Differenz
	berechnet	gefunden		
1.	16,737	16,74	13,53	3,21
2.	9,652	9,65	6,46	3,19
3.	7,290	7,28	5,17	2,11
4.	6,112	6,10	4,59	1,51
5.	5,401	5,39	4,00	1,39
6.	4,910	4,90	3,80	1,10
7.	4,590	4,60	3,82	0,78

Tabelle VI.

A. Diphtherietoxin Höchst.

B. Diphtherie-Antitoxin *Behring*, 300fach.

1. 2,0 ccm A + 1,0 ccm B.
2. 2,0 „ A + $^1/_2$. 1,0 ccm B.
3. 2,0 „ A + $^1/_4$. 1,0 „ B.
4. 2,0 „ A + $^1/_8$. 1,0 „ B.
5. 2,0 „ A + $^1/_{16}$. 1,0 „ B.

Davon:

a) je 1,0 ccm + 11,0 ccm 2,5proz. Trichloressigsäure, 8,0 ccm Filtrat;

b) je 1,0 ccm 48 Stunden bei 40° C, dann wie bei a.

	Gesamt-N	Rest-N	
1,0 ccm A	45,52	42,16	ccm n/200 H_2SO_4
1,0 ccm B	154,49	3,94	

	ccm n/200 H_2SO_4			
	sofort		48 Stunden 40° C gefunden	Differenz
	berechnet	gefunden		
1.	29,42	29,44	27,86	1,58
2.	28,76	28,75	27,94	0,81
3.	28,42	28,39	28,00	0,39
4.	28,27	28,29	28,10	0,19
5.	28,19	28,19	28,09	0,10

Tabelle VII.

A. Diphtherietoxin Höchst.

B. Diphtherie-Antitoxin *Behring*, 300fach.

1. 0,5 ccm A + 0,5 cm B.
2. $^1/_2$. 0,5 ccm A + $^1/_2$. 0,5 ccm B.
3. $^1/_4$. 0,5 „ A + $^1/_4$. 0,5 „ B.
4. $^1/_8$. 0,5 „ A + $^1/_8$. 0,5 „ B.
5. $^1/_8$. 0,5 „ A + $^1/_8$. 0,5 „ B.

Davon:

a) je 1,0 ccm + 11,0 ccm 2,5proz. Trichloressigsäure, davon 8,0 ccm Filtrat;

b) je 1,0 ccm 48 Stunden bei 40° C, dann wie a.

	Gesamt-N	Rest-N	
1,0 ccm A	45,11	42,21	ccm n/200 H_2SO_4
1,0 ccm B	161,43	3,76	

	ccm n/200 H_2SO_4			
	sofort		48 Stunden 40° C gefunden	Differenz
	berechnet	gefunden		
1.	22,98	23,01	20,59	2,42
2.	11,49	11,51	10,29	1,22
3.	5,74	5,72	5,12	0,60
4.	2,87	2,88	2,59	0,29
5.	1,44	1,45	1,29	0,16

Zusammenfassung.

1. Die Toxin-Antitoxinbindung charakterisiert sich chemisch als Rest-N-Schwund des Gemisches durch Bildung eines mit 2,5proz. Trichloressigsäure fällbaren Eiweißkörpers.

2. Diese Bindung ist streng spezifisch.

3. An der Bildung des fällbaren Eiweißkörpers nimmt der Rest-N von Toxin und Antitoxin in gleichen Mengen teil.

4. Das Gesetz der Multipla findet in einem der Toxin- bzw. Antitoxinvariierung des Gemisches proportionalen Absinken des Rest-N-Schwunds die zahlenmäßig chemische Bestätigung.

Der Kohlensäuregehalt von destilliertem Wasser und dessen genaue Bestimmung.

Von

J. M. Kolthoff.

(Mitteilung aus dem Pharmazeutischen Laboratorium der Universität Utrecht.)

(Eingegangen am 25. Juni 1926.)

1. In einer früheren Veröffentlichung über die Reaktion von neutralem und destilliertem Wasser teilte ich mit[1]), daß Wasser, das im Gleichgewicht mit der Luft ist, ein p_H von 5,7 hat — einem Kohlensäuregehalt entsprechend von $1{,}5 \cdot 10^{-5}$. Der letzte Wert kann auch aus dem mittleren Kohlensäuregehalt der Luft und dem Verteilungskoeffizienten des Kohlendioxyds zwischen Wasser und Luft berechnet werden.

Es ist mir damals jedoch nicht gelungen, diesen Kohlensäuregehalt titrimetrisch zu bestimmen; immer wurde die Konzentration der Säure viel größer gefunden als der wirklich vorhandenen entsprach (l.c., S. 120). Hierin stehe ich nicht allein, neuerdings teilten *A. Kling* und *A. Lassieur*[2]) mit, daß sie dieselbe Erfahrung hatten. Sie destillierten Wasser aus einem Platingefäß und sammelten das Destillat auch in Platin. Nach der kolorimetrischen Bestimmung war das p_H gleich 5,8. Mittels Titration auf Phenolphthalein fanden sie jedoch einen Kohlensäuregehalt, der fünf- bis sechsmal größer war als einem p_H von 5,8 entspricht.

Ich habe nun eine ausführliche Untersuchung angestellt mit dem Zweck, die Schwierigkeiten kennenzulernen und eine Methode ausfindig zu machen, um die Spuren Kohlensäure in Wasser, in Gleichgewicht mit der Atmosphäre, einfach und genau zu bestimmen.

2. Besondere Schwierigkeiten bei der Titration von Spuren Kohlensäure sind das Auffinden des richtigen Indikators und des Titrierexponenten, d. h. des p_H-Wertes der Flüssigkeit beim Äquivalenzpunkt. Wenn man Kohlensäure als einbasische Säure titriert, so ist der Äquivalenzpunkt erreicht, wenn die Säure in Bicarbonat umgesetzt ist.

---

[1]) *J. M. Kolthoff*, diese Zeitschr. **168**, 110, 1926.
[2]) *A. Kling* und *A. Lassieur*, C. r. **181**, 1062, 1925.

Der Endpunkt ist also erreicht, wenn das p_H der Lösung derselben einer sehr verdünnten Bicarbonatlösung gleich ist.

Wenn die Konzentration des letzteren Salzes größer ist als etwa 0,001 molar, so ist das p_H[1]):

$$p_H = -\log\sqrt{K_1 K_2} = 8{,}4.$$

Hierin stellt K_1 die erste Dissoziationskonstante, K_2 die zweite Dissoziationskonstante der Kohlensäure vor.

$$K_1 = 3 \cdot 10^{-7}, \quad K_2 = 6 \cdot 10^{-11}.$$

Wenn wir nun äußerst verdünnte Bicarbonatlösungen mit einer Konzentration kleiner als 10^{-5} molar haben, so müssen wir bei unseren Berechnungen auch den sauren und basischen Charakter des Wassers in Betracht nehmen, also Rechnung halten mit den Wasserstoff- und Hydroxylionen, welche vom Wasser geliefert werden.

In Bicarbonatlösungen spielen die Reaktionen, welche in den folgenden Gleichungen dargestellt sind, eine Rolle:

$$NaHCO_3 \rightleftarrows Na^+ + HCO_3' \tag{1}$$
$$HCO_3' + HOH \rightleftarrows H_2CO_3 + OH' \tag{2}$$
$$HCO_3' + OH' \rightleftarrows CO_3'' + H_2O \tag{3}$$
$$H' + OH' \rightleftarrows H_2O. \tag{4}$$

Weil die Flüssigkeit elektroneutral ist, ist:

$$[H^+] + [Na^+] = [HCO_3'] + 2\,[CO_3''] + [OH']. \tag{5}$$

Die sehr verdünnte Salzlösung ist praktisch vollständig in die Ionen gespalten. Nennen wir die Salzkonzentration c, so ist:

$$[Na^+] = c$$

und

$$[H^+] + c = [HCO_3'] + 2\,[CO_3''] + [OH'] \tag{6}$$

Aus den Gleichungen (2) und (3) können wir ableiten, daß durch die Hydrolyse:

$$[H_2CO_3] = [CO_3''] + [OH']. \tag{7}$$

Weiter ist nach Gleichung (2):

$$\frac{[H_2CO_3][OH']}{[HCO_3']} = \frac{K_W}{K_1} \tag{8}$$

und nach Gleichung (3):

$$\frac{[HCO_3'][OH']}{[CO_3'']} = \frac{K_W}{K_2}. \tag{9}$$

Aus den Gleichungen (7) und (8) ergibt sich, daß:

$$[HCO_3'] = \frac{K_W}{K_1}\,(\{[CO_3''] + [OH']\}\,[OH']). \tag{10}$$

Aus den Gleichungen (8) und (9) ergibt sich:

$$\frac{[H_2CO_3]\,[OH']^2}{[CO_3'']} = \frac{K_W^2}{K_1 K_2}. \tag{11}$$

Aus den Gleichungen (7) und (11):

$$\{[CO_3''] + [OH']\}\,[OH']^2 = \frac{K_W^2}{K_1 K_2}\,[CO_3'']. \tag{12}$$

---

[1]) Vgl. *J. M. Kolthoff*, Der Gebrauch von Farbenindikatoren, 2. Aufl., S. 19.

Aus der letzten Gleichung ergibt sich, daß $[CO_3'']$ eine Funktion von $[OH']$ ist. Wir können diese Beziehung in Gleichung (10) einfüllen und finden dann den Zusammenhang zwischen $[HCO_3']$ und $[OH']$.

In dieser Weise ist es möglich, Gleichung (6) zu einer Gleichung mit einem Unbekannten zurückzubringen. Diese wird jedoch von höherer Ordnung und ist schwer zu lösen.

Wir können die Berechnung von p_{OH} besser nach einer anderen — und zwar angenäherten Weise ausführen. In erster Instanz nehmen wir an, daß die Konzentration der Hydrolyseprodukte vernachlässigbar klein ist in bezug auf die Bicarbonationenkonzentration. Bei erster Annäherung erhalten wir dann statt Gleichung (6):

$$[HCO_3'] = c.$$

Dann ergibt sich aus Gleichung (9), daß:

$$[CO_3''] = c[OH'] \frac{K_2}{K_W} \tag{13}$$

Aus den Gleichungen (7) und (13) folgt, daß:

$$[H_2CO_3] = [CO_3''] + [OH'] = c[OH'] \frac{K_2}{K_W} + [OH'].$$

Wir haben nun einen einfachen Zusammenhang zwischen $[H_2CO_3]$ und $[OH']$ und können $[OH']$ sofort aus Gleichung (8) berechnen.

Daraus ist dann $[H_2CO_3]$ und $[CO_3'']$ abzuleiten. Die gefundenen Werte können in Gleichung (6) eingesetzt werden, und wir finden dann für $[HCO_3']$ einen Wert kleiner als c.

Mit diesem neuen Wert von $[HCO_3']$ wird die Berechnung wiederholt, wonach man wohl den richtigen Wert für $[OH']$ findet.

Wenn die Bicarbonatkonzentration größer als 10^{-5} molar ist, gibt sogar die erste angenäherte Berechnung schon den richtigen Wert.

Wenn K_W gleich $6 \cdot 10^{-15}$ ist, so finden wir nämlich bei erster Annäherung bei $c = 10^{-5}$:

$$\begin{aligned} [OH'] &= 4{,}4 \cdot 10^{-7}. \\ [CO_3''] &= 4{,}4 \cdot 10^{-6}. \\ [H_2CO_3] &= 4.85 \cdot 10^{-7}. \end{aligned}$$

Wenn diese Werte in Gleichung (6) eingesetzt werden, dann ergibt sich, daß $[HCO_3']$ nicht gleich 10^{-5} ist, was wir ursprünglich angenommen haben, sondern kleiner, und zwar $0{,}95 \cdot 10^{-5}$ molar.

In diesem Grenzfalle dürfen wir also die Annäherung noch eben anwenden.

Aus dem gefundenen Wert für $(OH') = 4{,}4 \cdot 10^{-7}$ folgt, daß $p_{OH} = 6{,}36$ und

$$p_H = p_w - p_{OH} = 14{,}2 - 6{,}36 = 7{,}84.$$

In ähnlicher Weise habe ich bei anderen Bicarbonatkonzentrationen p_H berechnet. Die Werte sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Konzentration Bicarbonat	p_H
10^{-5} molar	7,84
$2 \cdot 10^{-5}$ „	7,95
10^{-4} „	8,3
10^{-3} „	8,4
10^{-2} „	8,4

3. Aus dem Obenstehenden ergibt sich, daß bei der Titration sehr verdünnter Kohlensäurelösungen in einer Konzentration von der Ordnung von 10^{-5} molar wir am besten einen Titrierexponenten von p_H gleich 8 wählen.

Nun müssen wir Rechnung mit der Tatsache halten, daß die dazu geeigneten Indikatoren sich wie schwache Säuren verhalten, welche auch eine Spur Lauge aufnehmen, bevor das p_H 8 erreicht ist.

Auf Phenolphthalein nehmen wir erst eine deutliche Rosafärbung wahr, wenn das p_H gleich 8,5 geworden ist. Wir wollen nun als Beispiel die Frage beantworten, wieviel Lauge benötigt ist, um 1 Liter kohlensäurefreies, reines destilliertes Wasser, beteilt mit 5 ccm 1proz. Phenolphthaleinlösung, auf ein p_H von 8,5 zu bringen.

Das Molargewicht von Phenolphthalein ist 318, die Flüssigkeit hat also eine Indikatorkonzentration von $1{,}6 \cdot 10^{-4}$ molar.

Nehmen wir nun an, daß der Indikator sich wie eine einbasische Säure verhält (was nicht ganz richtig ist) und daß die Dissoziationskonstante gleich $2 \cdot 10^{-10}$ ist, so ist:

$$\frac{[J']}{[HJ]} = \frac{K_{HJ}}{[H^+]}.$$

Bei einem p_H von 8,5 ist $[H^+]$ gleich $3 \cdot 10^{-9}$; also

$$\frac{[J']}{[HJ]} = \frac{2 \cdot 10^{-10}}{3 \cdot 10^{-9}} = 6{,}7 \cdot 10^{-2}.$$

Die totale Konzentration des Indikators:

$$[J'] + [HJ] = 1{,}6 \cdot 10^{-4}.$$

Hieraus finden wir dann, daß bei einem p_H von 8,5 $[J']$ ungefähr gleich 10^{-5} ist.

Weiter ist bei einem p_H von 8,5 p_{OH} gleich $14{,}2 - 8{,}5 = 5{,}7$, also $[OH'] \; 2 \cdot 10^{-6}$.

Im ganzen müssen wir also zu der Indikatorlösung in reinem Wasser zur Erreichung von p_H 8,5 eine Menge Lauge fügen, entsprechend

$$[J'] + [OH'] = 1{,}2 \cdot 10^{-5} \text{ molar.}$$

Wenn wir dafür keine Korrektur anbringen würden, so würden wir bei der Bestimmung von Spuren Kohlensäure — in Konzentrationen von etwa $1{,}5 \cdot 10^{-5}$ molar — einen beträchtlichen Fehler machen.

Wenn wir statt Phenolphthalein einen anderen Indikator mit noch größerer Dissoziationskonstante nehmen, wie Phenolrot oder Kresolrot, so würde der Fehler noch viel größer werden.

In diesen Fällen müssen wir also durch die Ausführung von blinden Versuchen die Korrektur bestimmen oder mit einer teilweisen neutralisierten Indikatorlösung arbeiten von derartiger Zusammensetzung, daß sie, in reines Wasser gebracht, dasselbe eben auf p_H bringt, zu dem wir titrieren wollen. Letztere Methode ist am zuverlässigsten, und ich habe sie auch angewandt.

Aus verschiedenen Versuchen hatte sich ergeben, daß Phenolrot ein sehr geeigneter Indikator ist zur Wahrnehmung des Endpunkts bei der Titration von Spuren Kohlensäure.

Bei einem p_H von 8,0 ist der Indikator fast vollständig in die alkalische Form übergeführt und nimmt er einen schön prägnanten rotvioletten Ton an. Bei der Titration sehr verdünnter Kohlensäurelösungen erreichen wir mit dem Indikator zudem den Vorteil, daß wir an der Farbänderung beurteilen können, ob wir in die Nähe des Endpunktes kommen. Bei meinen Versuchen verwendete ich ein amerikanisches Präparat Phenolrot (von *Hynson, Westcott* und *Dunning*, Baltimore). Es zeigt sich, daß eine nach *Clark* hergestellte Indikatorlösung (2,9 ccm n/10 Natron auf 100 mg Indikator) noch nicht vollständig neutralisiert war. Nur die starke Sulfosäuregruppe ist dann in die Salzform übergeführt. Man muß so viel Lauge zufügen, daß auch die zweite saure Gruppe fast vollständig neutralisiert ist. Zur Erhaltung einer Lösung vom p_H 8,0 ist es nötig, *um 100 mg Phenolrot in 4,5 ccm n/10 Lauge zu lösen und mit Wasser bis 100 ccm anzufüllen.* Von dieser Standardindikatorlösung füge ich 1 ccm zu 1 Liter des zu titrierenden Wassers.

Zur Prüfung der Frage, ob der Indikator in reinem Wasser wirklich das p_H 8,0 aufwies, habe ich wiederholt Versuche gemacht mit 1 Liter destillierten Wassers, das in Jenaer Kolben ausgekocht wurde und mit dem Indikator beteilt war. Beim Erwärmen und Abkühlen wurde ein Natronkalkrohr auf den Kolben gesetzt.

Es ergab sich, daß das p_H nach dem Abkühlen immer gleich 8,0 $\pm$ 0,2 war. Die Indikatorlösung ist für unseren Zweck also sehr gut brauchbar.

4. Weil der Kohlensäuregehalt des Wassers, das in Gleichgewicht mit der Luft ist, sehr gering ist, ging ich bei den Titrationen immer von 1,2 bis 1,3 Liter aus und verwendete n/100 Natriumcarbonat als Reagens. 2 ccm dieser Titerflüssigkeit pro Liter entsprechen einem Kohlensäuregehalt von $1 \cdot 10^{-5}$ molar. Weil die verdünnte Sodalösung viel weniger für Spuren Kohlensäure der Luft empfindlich ist als die verdünnte Natronlösung, ist ihre Verwendung in unserem Falle zu empfehlen.

Das Reagens wurde aus einer Mikrobürette von 5 ccm, welche in 0,01 ccm verteilt war, zugefügt.

Die erste Reihe Titrationen, welche ich ausführte, ergab viel zu hohe und schwankende Resultate. Die folgenden Tatsachen sind dafür verantwortlich:

1. Es dauert sehr lange, bevor gewöhnliches destilliertes Wasser, das meistens einen großen Überschuß an Kohlensäure enthält, in Gleichgewicht mit der Luft ist. Wenn das Wasser in offenen Kolben oder Bechergläsern aufbewahrt wird, dauert es mehr als eine Woche, bevor es in Gleichgewicht mit der Luft ist.

Viel schneller erreicht man das Ziel, wenn ein Luftstrom durchgesaugt wird. Damit keine alkalischen Verunreinigungen in das Wasser kamen, wusch ich die Luft zuerst durch etwa n/100 Schwefelsäure und dann durch eine Waschflasche mit Wasser. Die Einleitröhre war aus Jenaer Glas. Es zeigte sich, daß nach 10 Stunden Durchleiten von Luft das Wasser mit der Atmosphäre in Gleichgewicht war.

2. Die Titration soll in ganz gefüllten Flaschen ausgeführt werden. Bekanntlich ist Kohlensäure in Wasser nur für etwa 1 Proz. als H_2CO_3 vorhanden, während der Rest als CO_2 gelöst ist. Nun ist der Übergang des Anhydrids in die Säure eine merkbare Zeitreaktion. Wenn man die Kohlensäure titriert, so schlägt der Indikator, schon lange bevor der Äquivalenzpunkt erreicht ist, um. Läßt man dann kürzere Zeit stehen, so hat das CO_2 wieder mit dem Wasser oder den Hydroxylionen (oder beide) reagiert und wird die Reaktion wieder sauer. Man muß daher nach jedem Zusatz von Reagens abwarten, ob die Farbe des Indikators nicht mehr zurückläuft. Titriert man in nicht ganz gefüllten Flaschen, so kommt jedesmal nach Zusatz von Reagens und Umschütteln Luft in die Flasche, und man findet zu hohe Resultate.

Schließlich kam ich zu der folgenden Vorschrift: Das zu untersuchende Wasser befindet sich in Flaschen von Jenaer Glas von 1,2 bis 1,3 Liter. Die Flasche ist fast ganz mit dem Wasser angefüllt. Man fügt 1 ccm der neutralisierten Phenolrotnatriumlösung hinzu und dann aus der Mikrobürette so lange n/100 Natriumcarbonat, bis die rotviolette Farbe des Indikators auch nach 5 Minuten Stehen nicht mehr verfadet.

Es ist zu empfehlen, die Ausflußspitze der Bürette beim Zusatz von Reagens in das Wasser ausmünden zu lassen. Nach jedem Zusatz bringt man wieder schnell den Stopfen auf die Flasche, schüttelt um und wartet. Wenn man gar keine Ahnung hat, wie groß der Kohlensäuregehalt ist, so ist das Resultat der ersten Titration nicht sehr genau. Durch das wiederholte Öffnen und Schließen der Flaschen kann Kohlensäure verloren gehen oder aufgenommen werden.

Kennt man den Kohlensäuregehalt angenähert, so geben verschiedene darauf folgende Titrationen genaue und übereinstimmende Werte.

In der beschriebenen Weise habe ich verschiedene Titrationen ausgeführt.

Wasser in Gleichgewicht mit der Luft (nach Durchsaugen von Luft): p_H auf Methylrotnatrium (Konzentration des Indikators $1{,}5 \cdot 10^{-5}$ molar): 5,85, 5,90, 5,90. Korrigiert für Hydrolyse Indikator[1]) im Mittel $5{,}7 \pm 0{,}05$, berechneter Wert $p_H = 5{,}7$.

Titration:

Gefundener Kohlensäuregehalt $\left\{\begin{matrix}1{,}55\\1{,}57\\1{,}53\\1{,}58\\1{,}56\end{matrix}\right\} \cdot 10^{-5}$ molar

Im Mittel $1{,}55 \cdot 10^{-5}$ molar

Berechnet $1{,}5 \cdot 10^{-5}$ molar

[1]) Vgl. diese Zeitschr. **168**, 119, 1926.

Bei der Berechnung ist angenommen, daß die Luft 0,3 Vol.-Prom. Kohlensäure enthält und der Verteilungskoeffizient der Kohlensäure zwischen Wasser und Luft gleich 1 ist.

Wir finden also eine glänzende Übereinstimmung zwischen dem experimentell bestimmten und dem berechneten Kohlensäuregehalt im Wasser in Gleichgewicht mit der Atmosphäre.

Dieser Gehalt ist so gering, daß wir dieses Wasser für die meisten Zwecke wohl als kohlensäurefrei betrachten können. Wenn wir z. B. mit diesem Wasser aus n/10 Natron eine n/100 Lösung herstellen, werden nur 0,3 Proz. in Carbonat übergeführt.

Daß man gewöhnlich für verschiedene Zwecke destilliertes Wasser auskocht und nicht als solches verwendet, rührt daher, daß das gewöhnliche destillierte Wasser meistens einen großen Überschuß Kohlensäure enthält. Im hiesigen Institut wird das destillierte Wasser ohne Zusatz durch Destillation von Utrechter Leitungswasser erhalten (*Continu*-Verfahren).

Dieses Wasser hat gewöhnlich eine elektrische Leitfähigkeit, schwankend zwischen 6 und $2{,}5 \cdot 10^{-6}$ rez. Ohm bei 18°. Wenn nun der Überschuß an Kohlensäure durch Lüften entfernt wurde, so war die Leitfähigkeit gesunken bis $0{,}75 - 0{,}8 \cdot 10^{-6}$ rez. Ohm bei 18°. Durch einmalige Destillation von Leitungswasser erhalten wir also ein Leitfähigkeitswasser von ausgezeichneter Qualität.

Das ursprünglich hohe Leitungsvermögen muß dem hohen Kohlensäuregehalt zugeschrieben werden (die Kohlensäure wird bei der Zersetzung der Bicarbonate gebildet). Der hohe Kohlensäuregehalt ergab sich auch aus verschiedenen Titrationen.

In unten stehender Tabelle gebe ich einige Zahlen, welche in gewöhnlichem destillierten Wasser gefunden sind.

Kohlensäuregehalt in gewöhnlichem destillierten Wasser	p_H auf Methylrotnatrium (korrigiert)
$2{,}44 \cdot 10^{-4}$	5,05
$1{,}3 \cdot 10^{-4}$	5,20
$1 \cdot 10^{-4}$	5,25

Wir sehen hieraus, daß das erste Muster Wasser etwa 20 mal mehr Kohlensäure enthält als im Gleichgewicht mit der Luft ist. Wie gesagt, verliert dieses Wasser die Kohlensäure bei offenem Stehen nur sehr langsam. Dies ergab sich auch bei der kolorimetrischen p_H-Bestimmung.

Nach einer halben Stunde Stehen in einem offenen Reagenzrohr war die Farbe des Indikators praktisch nicht geändert.

Nach 3 Stunden Durchsaugen von Luft war der Gehalt von $2{,}4 \cdot 10^{-4}$ molar gesunken auf $2{,}7 \cdot 10^{-4}$ molar.

Nach 1,5tägigem Stehen in einem offenen Becherglas (Durchschnitt 12,5 ccm) war der Gehalt $7{,}5 \cdot 10^{-5}$ molar, nach 2,5 Tagen $5 \cdot 10^{-5}$ molar.

Beim Aufbewahren in offenen Jenaer Kolben (Durchschnitt des Bodens 14 cm, des Halses 4 cm) war der Kohlensäuregehalt nach 1,5 Tagen gesunken bis $4{,}75 \cdot 10^{-5}$ molar, nach 2,5 Tagen $3{,}5 \cdot 10^{-5}$ molar, nach einer Woche (bis $1{,}8 \cdot 10^{-5}$).

Für praktische Zwecke ist es also wohl genügend, um das Wasser eine Woche offen stehen zu lassen, um es ungefähr in Gleichgewicht mit der Luft zu haben. Wenn man es vollkommen im Gleichgewicht mit der Luft haben will, so ist zu empfehlen, während 10 Stunden Luft durchzusaugen. Die Luft wird durch sehr verdünnte Säure und Wasser gewaschen. — Schließlich sei hier noch bemerkt, daß die beschriebene Titrationsmethode der Kohlensäure wahrscheinlich auch sehr geeignet ist zur Bestimmung des Kohlensäuregehalts in irgend einer Atmosphäre.

Man setzt eine Flasche von gutem Glase in den zu untersuchenden Raum, füllt sie fast ganz auf mit Wasser und saugt einige Zeit Luft hindurch. Sodann titriert man die Kohlensäure mit n/100 Soda auf Phenolrotnatrium als Indikator.

Zusammenfassung.

1. In Übereinstimmung mit dem theoretisch berechneten Werte wurde gefunden, daß Wasser in Gleichgewicht mit normaler Luft einen Kohlensäuregehalt von 1,5 bis $1{,}6 \cdot 10^{-5}$ molar hat.

2. Bei der Titration derartig verdünnter Säurelösungen ist die Verwendung neutralisierter Indikatorlösungen zu empfehlen. Die Indikatorlösung soll derartige Zusammensetzung haben, daß sie in reinem Wasser eben das p_H hat, wie die zu titrierende Lösung beim Äquivalenzpunkt.

Auch kann man eine nicht neutralisierte Indikatorlösung anwenden und in einem blinden Versuch in reinem, kohlensäurefreiem Wasser feststellen, wieviel die Korrektur beträgt.

Weiter ist zu empfehlen, die Titration in fast ganz gefüllten Flaschen auszuführen.

3. Das aus Leitungswasser erhaltene destillierte Wasser enthält gewöhnlich eine große Menge Kohlensäure. Wenn man das Wasser offen aufbewahrt, dauert es mehr als eine Woche, bevor es ganz in Gleichgewicht mit der Luft ist.

Schneller erreicht man das Ziel, wenn man während 10 Stunden gewaschene Luft durchsaugt.

4. Der Kohlensäuregehalt von Wasser in Gleichgewicht mit der Luft ist so gering ($1{,}5 \cdot 10^{-5}$ molar), daß es für die meisten Zwecke als kohlensäurefrei betrachtet werden kann.

5. Durch einmalige Destillation von Utrechter Leitungswasser wird ein destilliertes Wasser erhalten, das, wenn es in Gleichgewicht mit der Luft ist, eine Leitfähigkeit von 0,75 bis 0,8 rez. Ohm bei 18° hat.

6. Die beschriebene Kohlensäuretitration kann wahrscheinlich auch angewandt werden zur Bestimmung des Kohlensäuregehalts in irgend einer Atmosphäre.

Über Eiweißsubstanzen der Lymphdrüse und Nebenniere.

Von

Mohammed Mustafa Sabry.

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium der Krankenanstalt Rudolfstiftung in Wien. III.)

(Eingegangen am 25. Juni 1926.)

Die Untersuchungen, die bisher bei Organen gemacht wurden, haben in den meisten Fällen bloß Gesamteiweißbestimmungen ergeben, während nur bei wenigen Arbeiten genauere Mitteilungen über einzelne Eiweißfraktionen vorliegen. So werden von *Ploss*[1]) in seiner Arbeit über die Lebereiweißstoffe die wichtigsten Angaben bezüglich der wasserlöslichen, salzlöslichen koagulablen Eiweißsubstanzen gemacht. Dabei fand er einen bei 45° koagulablen, in Essigsäure und Salzsäure löslichen, ganz verdaulichen Proteinstoff, der völlige Übereinstimmung mit einem Muskeleiweißkörper zeigte. Ferner ein bei 70° koagulables Nucleoalbumin — der Name ist insofern nicht mehr berechtigt, als derselbe heute einen anderen Umfang bezeichnet — und außerdem noch einen bei 75° koagulablen Körper. *Halliburton*[2]) fand in der Niere ein im Mittel bei 52° koagulierbares, im Überschuß von Essigsäure lösliches Phosphor in Spuren enthaltendes Globulin (Alpha) und deutete als erster ein bei 63° koagulierbares Protein als Nucleoalbumin identisch mit *Wooldridges* Gewebsfibrinogen. In der Leber beschrieb er ein im Überschuß von Essigsäure leicht lösliches Hepatoglobulin vom Koagulationspunkt 45 bis 50°, ein bei 68 bis 70° ausfällbares Globulin (Beta), ein Nucleoalbumin und auch etwas Albumin.

Bei der Extraktion von Nierenrindensubstanz mit 0,1 proz. Natronlauge gewann *Loennberg*[3]) einen mit Essigsäure fällbaren Körper, der bei Pepsinverdauung Nuclein lieferte, neutralisierte, nicht koagulierte und im Überschuß von Säure löslich war. Im Nierenmark stellte er ein mucinähnliches Nucleoalbumin fest. Aus der Milz erhielt *Botazzi*[4]) Cytoglobuline, Cytoalbumine und Protein. *Pohl*[5]) beschäftigte sich besonders mit einem Eiweiß-

---

[1]) *Ploss*, Pflügers Arch. **7**, 371, 1893.

[2]) *W. D. Halliburton*, „The Proteids of kidney an liver celle". Journ. of Phys. **13**, 808, 1860.

[3]) *Ingolf Loennberg*, Beitrag zur Kenntnis der Eiweißkörper der Niere und der Harnblase. Stand. Arch. f. Physiol. **3**, 1892.

[4]) *Botazzi*, „Les substances albuminoides de la rate". Arch. ital. Biol. 1895, S. 453.

[5]) *G. Pohl*, „Das Arbeiten mit Organeiweiß". Handb. d. biochem. Arbeitsmethod. **1**, 659.

produkt in den Organen, das er als Nucleoproteid erklärt, und einem zweiten, auch durch Essigsäure fällbaren Körper, der wohl durch die Orcinreaktion auf spektralanalytischem Wege andere Einzelheiten als das erstgenannte Protein ergibt, dennoch aber von ihm als Nucleoproteid angesprochen wird.

Mit Rücksicht auf die Tatsache, daß das Gebiet der Organeiweißstoffe nur von den wenigen genannten Autoren bearbeitet wurde und daher nur spärliche Ergebnisse vorliegen, wurden zur Erweiterung der Kenntnisse die Eiweißsubstanzen der Lymphdrüse und Nebenniere einer eingehenden Untersuchung unterzogen.

Über die Proteine der Lymphdrüse findet man bloß eine ganz allgemeine Analyse[1]) angegeben, in der 5 Proz. als Nucleinat, 8 Proz. als Nucleoproteid und 87 Proz. als Resteiweißstoffe bezeichnet werden. Schon aus der Menge des Restes kann man ersehen, daß der größte Teil der vorhandenen Körper unbekannt ist.

Was die Untersuchung der Nebenniere anlangt, so liegen hier wohl Ergebnisse der Erforschung der wirksamen Sekretsubstanz — des Adrenalins — vor, während die Eiweißsubstanzen bisher keiner Analyse unterzogen worden sind.

Für eine Trennung der Eiweißstoffe, wie sie in den zur Untersuchung gelangenden Organen enthalten sind, stehen vor allem zwei Verfahren zur Verfügung. Erstens die Aussalzung durch Neutralsalzlösungen von verschiedener Konzentration und zweitens die Isolierung der bei verschiedenen Temperaturen koagulierbaren Eiweißkörper.

Zur Gewinnung der Eiweißlösung wurden frische, vom Schlachthaus bezogene Drüsen von Rindern mit Wasser gut gewaschen, um sie vollständig von Blutbestandteilen zu befreien, hierauf mit Schere und Messer rein präpariert, zerkleinert und in einer Faschiermaschine zu einem Brei verwandelt. Die Menge wurde nun gewogen, mit der ungefähr fünffachen Menge 0,6proz. Kochsalzlösung ausgezogen und schließlich so lange mit 0,6proz. Kochsalzlösung extrahiert, bis eine Probe davon in der Hitze keine Koagulation mehr zeigte. Die auf diese Weise erhaltene trübe Lösung mehrmals durch ein Tuch koliert und dann zentrifugiert, ergab eine rötlich gefärbte, von körperlichen Elementen völlig befreite Flüssigkeit, die zum Zwecke der besseren Konservierung mit etwas Toluol versetzt als Untersuchungsmaterial verwendet werden konnte. Für längere Arbeiten mit dieser Lösung empfahl es sich überdies, den Kochsalzauszug im Eisschrank aufzubewahren.

Um ein Bild von der Stärke des Extraktes zu gewinnen, wurde in einer gemessenen Menge eine Gesamtstickstoffbestimmung ausgeführt, während der Hauptteil der Lösung zur Untersuchung der einzelnen Fraktionen der Eiweißsubstanzen diente.

Die N-Bestimmung ergab für den Extrakt der Lymphdrüse 0,60 Proz., das entspricht 3,73 Proz. Eiweiß und für die Nebenniere 0,56 Proz. Gesamtstickstoff, was 3,48 Proz. Eiweiß entspricht.

---

[1]) *I. Bang*, Chemische Untersuchungen der lymphatischen Organe. 3. Mitteilung, Hofmeisters Beitr. 4, 362, 1904.

Experimenteller Teil.

1. Aussalzungsmethode.

Schon seit *Hofmeister*[1]) ist es bekannt, daß man durch fraktionierte Sättigung mit Ammonsulfat in einer Eiweißlösung für verschiedene Proteinstoffe ganz charakteristische Ausfällungskonzentrationen feststellen kann und daß bei vollständiger Sättigung alle Eiweißkörper gefällt werden. Globuline werden im Gegensatz zu Albuminen bereits bei halber Sättigung ausgesalzen. Durch die Arbeit von *Spiro*[2]) wurde gefunden, daß sich bei einer Sättigung von 1 : 3 eine Fraktion, Euglobuline genannt, ausfällen läßt, während das Pseudoglobulin dabei in Lösung bleibt.

Verfährt man nach der von *Hofmeister* angegebenen Methode, so erhält man bei einzelnen dieser Konzentrationen Fällungen. Diese wurden selbstverständlich mit den entsprechenden Lösungen gewaschen und hierauf mit siedender physiologischer Kochsalzlösung auf dem Filter koaguliert. (Das Filtrat davon kocht man am besten nochmals auf, um die letzten Spuren von Eiweißstoffen zu gewinnen.) Das Koagulat wurde nun mit physiologischer Kochsalzlösung so lange gewaschen, bis das Filtrat mit *Nesslers* Reagens keine Gelbfärbung mehr gab, und hierauf der Niederschlag samt Filter zur Bestimmung des Stickstoffgehalts bzw. der Eiweißmenge kjeldahlisiert. Es wurden von jeder Fraktion zwei Parallelbestimmungen durchgeführt und ergaben nachfolgende Mittelwerte:

Lymphdrüse.

$(NH_4)_2SO_4$ Konzentration Proz.	Gesamtstickstoffgehalt der Fällung Proz.	Eiweißgehalt der Fällung Proz.	Eiweißgehalt der Fällung der Gesamteiweißmenge Proz.
40	0,337	2,0894	55,16
50	0,345	2,1590	57,43
60	0,436	2,7032	72,66
70	0,468	2,9010	77,98
80	0,580	3,5960	96,66
90	0,600	3,7200	100,00

Nebenniere.

$(NH_4)_2SO_4$ Konzentration Proz.	Gesamtstickstoffgehalt der Fällung Proz.	Eiweißgehalt der Fällung Proz.	Eiweißgehalt der Fällung der Gesamteiweißmenge Proz.
40	0,329	2,0398	58,61
50	0,336	2,0832	59,89
60	0,410	2,5420	73,07
70	0,450	2,7900	80,21
80	0,553	3,4286	98,57
90	0,560	3,4720	99,62

[1]) Hofmeisters Beitr. I.
[2]) Ebendaselbst III.

II. Koagulationsmethode.

Zum Zwecke einer Trennung bzw. Charakterisierung der Organeiweißstoffe wandten wir die Koagulationsmethode an und gingen dabei in folgender Weise vor:

Die mit dem Kochsalzauszug beschickte Eprouvette, in die ein genau graduiertes Thermometer eintaucht, wird in ein mit Wasser gefülltes Becherglas derart hineingestellt, daß das Wasserniveau höher steht als das der Extraktionsflüssigkeit. Unter das Becherglas bringt man einen Brenner, dessen Flamme so regulierbar ist, daß die Temperatur während mindestens 5 Minuten auf ein und demselben Grad gehalten werden kann. Wird nun die Temperatur ganz langsam erhöht, so tritt beim jeweiligen Koagulationspunkt in der Flüssigkeit nicht nur Trübung ein, sondern es ist auch bald eine flockige Fällung festzustellen. Diese ist das Zeichen, daß der Eiweißkörper koaguliert, und in diesem Moment muß die Temperatur abgelesen werden. Um eine vollständige Ausflockung erzielen zu können, empfiehlt es sich, mindestens eine halbe Stunde bei gleicher Temperatur zu warten. Der Niederschlag wird hierauf abfiltriert und das Filtrat in der oben erwähnten Weise bis zum nächsten Koagulationspunkt weiter erhitzt. Die Versuche wurden bei einem Gehalt von 0,6proz. Kochsalzlösung ausgeführt. Eine noch bedeutendere Rolle als der Salzgehalt für die Feststellung der Koagulationspunkte spielt der Grad der Acidität bzw. Alkalität. Um hierbei richtig vorzugehen, wurde festgestellt, bei welcher Wasserstoffionenkonzentration die stärkste Ausfällung der Eiweißstoffe zu beobachten war. Nach *Michaelis* fällt das Optimum der H-Ionenkonzentration bei der Koagulation einer Eiweißlösung mit dem isoelektrischen Punkt derselben zusammen und das Optimum der Flockung wird in bezug auf die H-Ionenkonzentration nicht durch Änderung der Eiweißkonzentration geändert. In unserem Falle betrug die Ionenkonzentration 10^{-7} und für die Vergleichsuntersuchungen wurde die Kontrolle mit dem Indikator Alizarin festgestellt. Im Rahmen der Koagulationsversuche wurden nur jene Proteine studiert, die bis zu einer Temperatur von 62° gefällt wurden.

Im Eiweißextrakt der Lymphdrüse traten Hitzefällungen bei folgenden Temperaturen ein: 41, 45, 50, 53, 56 und 61°.

Im Extrakt der Nebenniere fanden wir folgende Koagulationspunkte: 41, 45, 50, 53, 56 und 61°.

Nur bei diesen Temperaturen ließen sich flockige Ausfällungen erzielen, während bei den dazwischen liegenden Graden auch bei noch so langer Beobachtung nur Zunahme der Trübung, aber keine Fällung bemerkt werden konnte.

Wir haben also sowohl bei der Lymphdrüse, als auch bei der Nebenniere je sechs gemeinsame Koagulationspunkte festgestellt.

Es war nun auffallend, daß in der Lymphdrüse und Nebenniere, denen doch ganz verschiedene Funktionen zukommen, kein Unterschied in qualitativer Hinsicht zu konstatieren war, also scheinbar gleiche Proteinstoffe enthalten sind.

Anders verhielt es sich aber, wenn man die Menge der koagulierten Körper bei beiden Organenen miteinander verglich. Zu diesem Zwecke wurde der Stickstoffgehalt der einzelnen Fraktionen festgestellt und bei der Annahme von ungefähr 16 Proz. N in den Eiweißsubstanzen die Menge dieser durch Multiplikation des Stickstoffwertes mit 6,2 berechnet.

Wir haben auch hier wieder von jeder Fraktion Doppelbestimmungen ausgeführt und hierbei folgende Mittelwerte erhalten:

Lymphdrüse.

Koagulationspunkt der Eiweißkörper	Gesamt-Fraktions-stickstoff Proz.	Fraktionseiweiß-menge Proz.	Fraktionsfällung der Gesamteiweiß-menge Proz.
41°	0,0320	0,1984	5,33
45	0,0220	0,1364	3,67
50	0,0140	0,0868	2,33
53	0,0124	0,0769	2,07
56	0,0110	0,0682	1,83
61	0,0096	0,0595	1,60

Nebenniere.

Koagulationspunkt der Eiweißkörper	Gesamt-Fraktions-stickstoff Proz.	Fraktionseiweiß-menge Proz.	Fraktionsfällung in der Gesamt-eiweißmenge Proz.
41°	0,0404	0,2506	7,20
45	0,0244	0,1513	4,35
50	0,0182	0,1128	5,24
53	0,0145	0,0699	2,58
56	0,0080	0,0496	1,42
61	0,0068	0,0422	1,21

Aus vorstehenden Tabellen läßt sich ersehen, daß die Menge des Fraktionseiweißes mit steigendem Koagulationspunkt abnimmt, daß bei gleichen Koagulationspunkten der Eiweißsubstanzen der Lymphdrüse und Nebenniere größere Differenzen im Verhältnis des Gesamteiweißes (-stickstoffs) zum Fraktionseiweiß (-stickstoff) zu konstatieren sind und daß die erste Fraktion die größte Eiweißmenge bei beiden Organen aufweist. Nachdem sich durch die Koagulationsversuche eine bisher noch nicht bekannte Vielheit von Eiweißfraktionen in den untersuchten Organen hatte nachweisen lassen, war es interessant, festzustellen, wie sich die durch Koagulation erhaltenen verschiedenen Fraktionen zu den durch Ausfällung mit Ammonsulfat gewonnenen verhalten.

Zu diesem Zwecke wurden größere Mengen der einzelnen ausgesalzenen Fraktionen rein dargestellt und ein Teil derselben einer stufenweisen Hitzekoagulation unterzogen. Naturgemäß wurde bei diesen Versuchen darauf geachtet, daß möglichst gleiche Konzentrationen des Salzgehaltes bei wie früher erwähnter Wasserstoffionenkonzentration ($11-^{7}$) eingehalten werden. Dabei stellte sich heraus, daß der durch 40proz. Ammonsulfatlösung ausgefällten Fraktion bei Lymphdrüse und Nebenniere eine Koagulationstemperatur von 41° entspricht. Die übrigen Werte lassen wir in der nächsten Tabelle folgen.

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß bei einer Salzkonzentration von 40 Proz. bloß je ein Eiweißkörper niedergeschlagen wurde, während sich die bei den höheren Konzentrationen abgeschiedenen Eiweißfraktionen durch nachfolgende stufenweise Koagulation noch in mehrere Anteile trennen ließen. Mit Rücksicht auf die niedrigen Koagulationspunkte der gefundenen Körper dürfte es sich hauptsächlich um solche von Globulincharakter handeln. Deshalb wurden auch Aussalzversuche in mit Kochsalz, Magnesium-

$(NH_4)_2SO_4$ Konzentration Proz.	Koagulationspunkt der Eiweißkörper der Lymphdrüse	Koagulationspunkt der Eiweißkörper der Nebenniere
50	45° (und Spuren von 50 und 53°)	45° (und Spuren von 50 und 53°)
60	50 und 53° (und Spuren von 56 und 61°)	50 und 53° (und Spuren von 56 und 61°)
70	56 und 61°	56 und 61°
80	56 und 61°	56 und 61°

sulfat und Ammonsulfat gesättigter Eiweißlösung angestellt und es konnten folgende Resultate festgestellt werden:

Lösung	Koagulationspunkte der in der Fällung enthaltenen Eiweißkörper der Lymphdrüse	Koagulationspunkte der in der Fällung enthaltenen Eiweißkörper der Nebenniere
Mit Kochsalz gesättigt	41 und 45°	41 und 45°
Bei 37° mit $MgSO_4$ gesättigt . . .	41, 45 und 50°	41, 45 und 50°
Mit $(NH_4)_2SO_4$ gesättigt	41, 45, 50, 53, 56 und 61°	41, 45, 50, 55, 56 und 61°

Es gelang also durch Sättigung des Eiweißextraktes mit Kochsalz und $MgSO_4$ zwei Trennungen der gefundenen Eiweißsubstanzen durchzuführen, wobei die bei niedrigeren Temperaturen koagulierenden Stoffe ausgesalzen wurden, während sie bei den höheren in Lösung blieben.

Die angeführten Untersuchungen ergeben das Resultat, daß sich sowohl in der Lymphdrüse als auch in der Nebenniere je sechs Eiweißkörper haben nachweisen lassen, die sich von den Proteinen des Blutserums durch die geringe Höhe der Koagulationspunkte unterscheiden und die in Organen, welche ungleiche Funktionen auszuüben haben, bezüglich der Koagulationspunkte und der Aussalzungskonzentration Gleichheit zeigen. Ein Unterschied ist lediglich in der Menge der Eiweißfraktionen der bei gleichen Koagulationspunkten fällbaren Körper zu konstatieren.

III. Studien mittels Farbreaktionen, über Verdaulichkeit und Untersuchung auf Phosphorgehalt.

Die Feststellung der quantitativen Unterschiede hat uns veranlaßt, auch auf anderem Wege als durch Koagulation und Aussalzung die Mengenverhältnisse der Substanzen aufzuklären.

Fischer-Abderhalden haben eine Methode angegeben, nach der es durch Hydrolyse der Eiweißstoffe möglich ist, einen Einblick in die Bausteine dieser Körper zu gewinnen, indem man die Aminosäuren bzw. die Anhydride feststellt. Nachdem aber zu diesem Verfahren große Menge an Material benötigt werden, haben wir versucht, ein Bild der Zusammensetzung der in Frage stehenden Stoffe dadurch zu erlangen, daß wir eine systematische Durchführung der Farbreaktionen der Eiweißsubstanzen vornehmen und

damit einen Einblick in die Baustoffe gewannen. Zur quantitativen Untersuchung wurden kolorimetrische Bestimmungen herangezogen, wobei als Vergleichslösung Normalserumalbumin diente. Auch haben wir, durch die Ergebnisse dieser Studien ermuntert, in der Folge noch eingehendere Untersuchungen vorgenommen, indem wir das von *D. D. van Slyke* ausgearbeitete Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Abbauprodukte der Proteine benutzten.

Zur Durchführung der Farbreaktionen müssen die Eiweißprodukte in vollkommen reinem Zustande vorliegen. Es wurden deshalb die Organextrakte der stufenweisen Koagulation unterzogen, da nur auf diese Art, nicht aber durch Aussalzung, einheitliche Proteinstoffe gewonnen werden können. Die nun so erhaltenen Stoffe wurden nach gründlichem Auswaschen mit 0,6proz. Kochsalzlösung in einer gemessenen Menge 0,1proz. Natronlauge gelöst und für die gewünschten Untersuchungen benutzt. Es wurde dabei in der Weise vorgegangen, daß man in 1 ccm der alkalischen Organfraktionslösung den Stickstoffgehalt bestimmte und eine normale Serum-Albuminlösung von gleichem N-Gehalt herstellte. Darauf wurden die Farbreaktionen quantitativ so ausgeführt, daß die Farbstärke von 5 ccm der Eiweißlösung mit der gleichen Farbstärke einer Serumlösung von gleichem Volumen, die man aus einer Reihe von Serumkonzentrationen auswählt, kolorimetrisch verglichen wurde.

Folgende Farbreaktionen wurden bei vorliegender Arbeit in Betracht gezogen:

1. Xanthoproteinreaktion für den Nachweis von Indol- und Phenolgruppen.
2. Biuretreaktion für den Nachweis von $CO(NH_2)_2$, $CS(NH_2)_2$, $SNH(NH_2)_2$-Gruppen.
3. *Millon*sche Reaktion für den Nachweis von Phenolgruppen.
4. Die Molischreaktion auf das Vorhandensein von Kohlenhydraten.
5. Die Chinonreaktion auf Aminosäuren.

Xanthoproteinreaktion.

5 ccm Eiweißlösung wurden mit 1 ccm konzentrierter HNO_3 erhitzt, hierauf erkalten gelassen, mit 4 ccm konzentrierten Ammoniaks alkalisch gemacht und mit der Serumalbuminlösung verglichen. Das Ergebnis dieser Untersuchung folgt in nachstehender Tabelle.

Gleiche Reaktionstärke zeigte sich bei:

Lymphdrüse.

Koagulationstemperatur	N-Gehalt der Fraktionslösung Proz.	N-Gehalt der Vergleichsserumalbuminlösung Proz.
41°	0,530	0,500
45	0,100	0,200
50	0,052	0,036
53	0,031	0,028
56	0,010	0,016
61	0,0074	0,0074

Nebenniere.

Koagulationstemperatur	N-Gehalt der Fraktionslösung Proz.	N-Gehalt der Vergleichs-serumalbuminlösung Proz.
41°	0,100	0,100
45	0,016	0,027
50	0,008	0,015
53	0,0075	0,0075
56	0,0050	0,010
61	0,0040	0,0040

Biuretreaktion.

5 ccm Eiweißlösung, die mit 4,5 ccm 10proz. Kalilauge versetzt worden waren, wurden nach Hinzufügen von 10 Tropfen einer n/100 $CuSO_4$-Lösung verwendet.

Gleiche Reaktionsstärke zeigte sich bei:

Koagulationstemperatur	Stickstoffgehalt der Fällung Proz.	Stickstoff des Vergleichs-serums Proz.
	Lymphdrüse.	
41°	0,530	1,060
45	0,100	0,100
50	0,052	0,052
54	0,031	0,051
56	0,010	0,010
61	0,0074	0,008
	Nebenniere.	
41°	0,100	0,100
45	0,018	0,014
50	0,008	0,007
53	0,0075	0,0031
56	0,0030	0,0050
61	0,0040	0,0040

Millonsche Reaktion.

Zur Prüfung auf Tyrosin und monohydroxylierte Benzolderivate bedient man sich der *Millon*schen Reaktion, bei der eine Lösung von Quecksilber in Salpetersäure, die etwas salpetrige Säure enthält, in den Proteinlösungen einen Niederschlag gibt. Dieser wird bei gewöhnlicher Temperatur langsam, beim Kochen dagegen rasch rot gefärbt, und auch die ganze Flüssigkeit kann dabei die gleiche Farbe annehmen. Nach *Abderhalden* und *Kempe* kann auch das Tryptophan durch dieses Reagens nachgewiesen werden, wobei Rotbraunfärbung eintritt.

5 ccm Eiweißlösung wurden mit 5 ccm *Millon*schen Reagens zum Kochen erhitzt.

Gleiche Reaktionsstärke zeigte sich bei:

Koagulationstemperatur	Stickstoffgehalt der Fällung Proz.	Stickstoffgehalt des Vergleichsserums Proz.
	Lymphdrüse.	
41°	0,530	0,360
45	0,100	0,056
50	0,052	0,036
53	0,032	0,031
56	0,010	0,009
61	0,0074	0,0074
	Nebenniere.	
41°	0,100	0,160
45	0,018	0,035
50	0,008	0,012
53	0,0075	0,0070
56	0,0050	0,0050
61	0,0040	0,0040

Bei der *Molischreaktion* und *Chinonreaktion* ergaben sich so kleine Farbenunterschiede zur Vergleichsserumalbuminlösung, daß man deren N-Gehalt als fast gleich bezeichnen kann mit dem der Serumlösung.

Verdaulichkeit.

Zur Feststellung des Nucleinkörpergehalts untersuchten wir die Verdaulichkeit der in den beiden Organen gefundenen Eiweißfraktionen. Zu diesem Zwecke wurden die koagulierten Reaktionen in Natriumcarbonat gelöst und davon je Kubikzentimeter nach Hinzufügen von Methylorange als Indikator mit Salzsäure bis zu Rotfärbung versetzt. Die Lösung wurde nun mit frisch bereitetem 1proz. salzsauren Pepsinum germanicum auf etwa 8 ccm aufgefüllt und 3 Stunden lang bei 37° stehengelassen. Ganz verdauliche Proteinstoffe ließen nach dieser Zeit die Flüssigkeit vollständig klar erscheinen, während sich bei unvollständiger Verdauung ein flockiger Niederschlag von Nuclein abschied.

Koagulationspunkt	Lymphdrüse	Nebenniere
41°	verdaut	unverdaut
45	"	verdaut
50	unverdaut	"
53	verdaut	"
56	"	"
61	"	"

Es ergaben sich also bei den Extrakten Nucleokörper in der Lymphdrüse bei der 50-g-Fraktion und in der Nebenniere bei der 41 g-Fraktion.

Phosphorgehalt.

Weiter wurden noch Versuche angestellt, die das Vorhandensein von Phosphor in den einzelnen Fraktionen anzeigen und auf diese Weise eine

genauere Charakterisierung der erhaltenen Eiweißprodukte ermöglichen sollten.

Der Phosphor wurde in Form des Ammoniumphosphormolybdats abgeschieden.

Koagulationspunkt	Lymphdrüse Phosphornachweis	Nebenniere Phosphornachweis
41°	positiv	positiv
45	"	negativ
50	"	"
53	negativ	positiv
56	"	"
61	"	negativ

Die Untersuchungen führten also zu der Feststellung, daß bei der Lymphdrüse die Eiweißfraktionen mit den Koagulationspunkten von 41, 45 und 50°, bei der Nebenniere mit den Koagulationspunkten von 41, 53 und 56° Phosphorgehalt aufweisen und daß sich die Proteine der beiden Organe in dieser Beziehung unterscheiden.

IV. Quantitative Bestimmungen der Spaltungsprodukte.

Die bisherigen Resultate haben uns veranlaßt, quantitative Untersuchungen über die Zusammensetzung der von uns gefundenen Eiweißsubstanzen in bezug auf ihre Bausteine bzw. Abbauprodukte anzustellen.

A. Säurehydrolyse.

Die Versuche, die einzelnen Spaltprodukte der in der Lymphdrüse und Nebenniere erhaltenen Eiweißstoffe nach der *Fischer-Abderhalden*schen Methode festzustellen, mußten, wie bereits erwähnt, infolge der geringen Menge der rein dargestellten Proteine unterbleiben. Von *van Slyke* ist jedoch ein Verfahren ausgearbeitet worden, das auch bei kleinen Quantitäten an Ausgangsmaterial eine Trennung in verschiedene Fraktionen von Stickstoff gestattet, und dieses wurde mit einigen Abänderungen in vorliegender Arbeit angewandt. Die Eiweißstoffe werden zur Erzielung einer vollständigen Hydrolyse mit Salzsäure 24 Stunden lang gekocht und hierauf in der Hydrolysenflüssigkeit (in einem aliquoten Teil der Lösung) der Gesamtstickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. Um das bei der Spaltung der Proteine gebildete Ammoniak festzustellen, wird zu der Flüssigkeit MgO hinzugefügt und das in Freiheit gesetzte NH_3 im Vakuum abdestilliert. Bei der Destillation werden die Huminstoffe von dem ungelösten MgO absorbiert und können deshalb durch Filtration von den übrigen Eiweißspaltprodukten leicht getrennt und ermittelt werden. Ein aliquoter Teil des Filtrats wird nun zur Ermittlung des N-Gehalts der Spaltflüssigkeit verwendet. Den Rest davon versetzt man mit wenig konzentrierter H_2SO_4 und 20proz. Phosphorwolframsäure, wodurch hauptsächlich die drei Hexonbasen (Arginin, Histidin und Lysin) gefällt werden. Die Fällung verteilt man hierauf in Wasser, fügt H_2SO_4 hinzu und schüttelt mit einer Mischung von gleichen Teilen Amylalkohol und Äther aus. Während sich die Phosphorwolframsäure in dem Alkohol-Äthergemisch löst, gehen die Basen in die Schwefelsäure, wässerige Lösung hinein. In einem Teil davon wird hierauf die N-Bestimmung der Diaminosäuren ausgeführt.

In der restlichen Lösung werden Histidin und Arginin einerseits und Lysin andererseits nach der *Kossel*schen Methode durch Versetzen mit Ag_2SO_4 und Barytwasser getrennt.

Zur weiteren Trennung des Histidins und Arginins, erschien die Methode von *Steudel* am zweckmäßigsten.

Das nach der Phosphorwolframsäurefällung der drei Diaminobasen erhaltene Filtrat wird kjeldahlisiert und auf diese Weise der Stickstoffwert der darin vorhandenen Monoaminosäuren festgestellt.

Zur Durchführung der Hydrolyse der Eiweißkörper bei der Nebenniere und Lymphdrüse wurden je ein halbes Kilogramm Ausgangsmaterial verwendet, in der bereits erwähnten Weise gereinigt und darauf mit 0,6proz. NaCl-Lösung erschöpfend extrahiert. Die erhaltenen Eiweißlösungen mußten nun der stufenweisen Koagulation unterzogen werden, da man nur so erfahrungsgemäß vollständig reine Proteinstoffe erhalten konnte, und die Fraktionskoagulate wurden hierauf wieder in 30 ccm n/20 NaOH gelöst.

Die alkalische Lösung versetzten wir dann mit 10 ccm 20proz. HCl und kochten sie am Rückflußkühler 24 Stunden lang zur vollständigen Hydrolyse. Dabei trat Dunkelfärbung infolge der Einwirkung der Säure auf die Eiweißsubstanzen unter Bildung von Huminstoffen auf.

In der Hydrolysenlösung wurde nun nach dem Versetzen mit MgO bis zur alkalischen Reaktion und Hinzufügen von Alkohol das in Freiheit gesetzte Ammoniak im Vakuum abdestilliert, in Säure aufgefangen und bestimmt.

Die Apparatur bestand aus einem dickwandigen Kolben, der einen Stopfen mit dreifacher Bohrung aufweist, durch den eine Kapillarröhre mit Schlauch und Klemme versehen, ein Thermometer und eine Sicherheitskugel hindurchführen. Letztere war mittels Vakuumschlauches mit einem Kühler verbunden, an den sich wieder luftdicht der Peligot anschloß, in welchem ein bestimmtes Volumen n/20 HCl vorgelegt war. Das andere Ende des Peligots stand ebenfalls durch einen Vakuumschlauch mit einer Sicherheitskugel in Verbindung, und von dieser wurde der Anschluß an die Saupgumpe hergestellt. Die zweite Sicherheitskugel erwies sich dabei als unbedingt notwendig, um ein Mitspeißen der vorgelegten Säure beim Hindurchstreichen der Luftblasen sicher zu verhüten, und es war auch zweckmäßig, bei der Destillation eine Temperatur von 35° nicht zu überschreiten, da sonst starkes Stoßen und Überspritzen der Substanz zu befürchten war. Die Destillation wurde in der Regel in einer Stunde beendet.

Die nachfolgenden Tabellenwerte wurden stets in Doppelanalysen gewonnen.

Ammoniak.

Lymphdrüse.

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge g	Fraktionsstickstoffmenge g	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
41°	0,0816	0,0091	11,1
45	0,0554	0,0056	10,2
50	0,0353	0,0029	8,4
53	0,0310	0,0027	8,8
56	0,0275	0,0024	9,0
61	0,0242	0,0021	8,9

Nebenniere.

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge g	Fraktionsstickstoffmenge g	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
41°	0,1010	0,0116	11,5
45	0,0610	0,0056	9,2
50	0,0455	0,0036	5,0
53	0,0362	0,0032	9,0
56	0,0204	0,0016	8,0
61	0,0173	0,0015	9,0

Nach Ausführung dieser Bestimmung wurde der Niederschlag, der aus Huminsubstanzen, gebunden an das überschüssige MgO, bestand, abfiltriert und so lange gewaschen, bis das Filtrat vollkommen farblos erschien und keine Chlorreaktion mehr gab. Der Niederschlag samt Filter kjeldahlisiert, ergab den N-Gehalt der Huminsubstanzen, wie folgende Tabelle zeigt.

Huminsubstanzen.

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge g	Fraktionsstickstoffmenge g	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
	Lymphdrüse.		
41°	0,0816	0,0048	5,9
45	0,0554	0,0053	9,6
50	0,0353	0,0038	10,9
53	0,0310	0,0031	10,0
56	0,0275	0,0012	4,7
61	0,0243	0,0011	4,7
	Nebenniere.		
41°	0,1010	0,0064	6,3
45	0,0610	0,0060	9,9
50	0,0465	0,0025	5,6
53	0,0362	0,0034	9,6
56	0,0204	0,0019	9,7
61	0,0173	0,0010	6,0

Filtrat und Waschwasser von den Huminsubstanzen wurden auf 100 ccm gebracht und davon 10 ccm zur Feststellung des Stickstoffgehalts der Spaltflüssigkeit nach *Kjeldahl* verascht.

Spaltflüssigkeit.

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge dmg	Fraktionsstickstoffmenge dmg	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
	Lymphdrüse.		
41°	80	64	80
45	55	43	78
50	35	27	78
53	31	25	80
56	28	23	87
61	24	20	87

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge dmg	Fraktionsstickstoffmenge dmg	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
	Nebenniere.		
41°	101	83	82
45	61	48	79
50	46	37	80
53	36	29	80
56	20	16	80
61	17	14	80

Die übrigbleibende Lösung (90 ccm) wurde mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 60 ccm 20proz. Phosphorwolframsäure versetzt, wodurch die Diaminosäuren Arginin, Histidin und Lysin gefällt wurden.

Den so erhaltenen Niederschlag konnte man durch ein gehärtetes Filter entweder abfiltrieren oder noch besser durch Zentrifugieren von der Lösung trennen. Nach dem Waschen mit 5proz. Phosphorwolframsäure wurde der Niederschlag in 40 ccm Wasser verteilt, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und schließlich mit einer Mischung von gleichen Teilen Amylalkohol und Äther quantitativ ausgeschüttelt. Die durch die Schwefelsäure in Freiheit gesetzten Basen gehen in die wässerige Lösung über, während sich die Phosphorwolframsäure in dem Amylalkohol-Äthergemisch unter intensiver Gelbfärbung der Mischung löst. Hierauf wurde sowohl der wässerige Auszug mit dem Alkohol-Äthergemisch zur Entfernung der Basenlösung ausgeschüttelt als auch das Lösungsmittel mit Wasser gewaschen. Die Diaminosäurenlösung brachten wir nun auf 80 ccm und unterzogen davon 10 ccm der Kjeldahlisierung.

Die folgende Tabelle zeigt die gefundenen Werte.

Hexonbasen.

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge dmg	Fraktionsstickstoffmenge dmg	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
	Lymphdrüse.		
41°	80	28	28
45	55	15	20
50	35	20	58
53	31	9	30
56	28	17	60
61	24	15	67
	Nebenniere.		
41°	101	27	27
45	61	14	24
50	46	12	28
53	36	15	29
56	20	6	30
61	17	5	30

Die gesamte Schwefelsäurelösung (70 ccm) versetzte man am zweckmäßigsten kalt unter Umschwenken mit kochend heißer Ag_2SO_4-Lösung so lange, bis eine Tüpfelprobe mit $Ba(OH)_2$ einen Überschuß des Silber-

salzes anzeigte. Dies erkennt man daran, daß der Barytniederschlag nicht mehr rein weiß oder hellgelb, sondern braungelb erscheint. Die Flüssigkeit, in der ein Niederschlag der Histidin- und Arginin-Silbersalze fällt, wurde nun abgekühlt und mit dem fein gepulverten Ätzbaryt so lange versetzt, bis ein Überschuß davon am Boden des Gefäßes deutlich zu erkennen war. Der Niederschlag wurde nun abfiltriert, mit Barytwasser gewaschen und hierauf in schwefelsäurehaltigem Wasser aufgeschwemmt. In diese Aufschwemmung leitet man nun zur Zerlegung der Silbersalze H_2S ein, kocht den Überschuß davon weg, filtriert von dem ausgeschiedenen Ag_2S und $BaSO_4$ ab und wäscht den Niederschlag, bis eine Probe des Filtrats mit Phosphorwolframsäure keine Reaktion mehr gibt.

10 ccm der auf 70 ccm gebrachten vereinigten Filtrate ergaben bei der H-Bestimmung der Summe des Arginins und Histidins nachfolgende Werte.

Histidin und Arginin.

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge dmg	Fraktionsstickstoffmenge dmg	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
	Lymphdrüse.		
41°	32	12	15
45	55	8	16
50	35	6	18
53	31	6	20
56	28	4	17
61	24	3	17
	Nebenniere.		
41°	101	12	12
45	61	05	9
50	46	05	10
53	36	04	10
56	20	02	10
61	17	02	10

Zur Trennung der beiden Basen mußte nun die Lösung mit Barytwasser genau neutralisiert und durch Zusatz von gelöstem $Ba(NO_3)_2$ eine vollständige Ausfällung der Schwefelsäure herbeigeführt werden. Der Niederschlag wurde hierauf abfiltriert und gründlich ausgewaschen, während das Filtrat samt Waschwasser mit HNO_3 angesäuert und so lange mit $AgNO_3$ versetzt wurde, bis eine Tüpfelprobe mit Barytwasser einen Überschuß dieses Reagens anzeigte. Die Säurelösung wurde hierauf mit Baryt abermals neutralisiert oder schwach sauer gemacht, aufgeschwemmtes $BaCO_3$ hinzugefügt, aufgekocht, erkalten und der Niederschlag absitzen gelassen. Dann filtriert man den Niederschlag ab und wäscht (mit einer 5 bis 6 Tropfen einer Barytlösung in 100 ccm Wasser enthaltenden Flüssigkeit) bis zum Verschwinden der HNO_3-Reaktion aus. Zur Zerlegung des Histidinsilbersalzes wurde in verdünnter H_2SO_4 eine Aufschwemmung bereitet, erhitzt, H_2S eingeleitet, der Überschuß des Reagens weggekocht und von Ag_2S und $BaSO_4$ abfiltriert. Nach gründlichem Auskochen des Niederschlags mit siedendem Wasser (bis Phosphorwolframsäure keine positive Reaktion mehr gibt) erhielt man vollkommen reines Histidin in Lösung, die zur N-Bestimmung nach *Kjeldahl* verwendet wurde.

Nachstehende Tabelle zeigt die gefundenen Werte.

Histidin.

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge dmg	Fraktionsstickstoffmenge dmg	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
	Lymphdrüse.		
41°	560	25	4,6
45	585	20	5,4
50	245	15	6,7
53	217	15	7,0
56	193	12	6,9
61	168	08	5,0
	Nebenniere.		
41°	707	41	6,8
45	427	13	3,0
50	319	13	4,4
53	253	12	4,9
56	140	5	3,9
61	119	2	2,0

Das Filtrat vom Histidin-Silberniederschlag sättigt man mit Ätzbaryt, filtriert den gelblich braunen Niederschlag ab, wäscht gut mit Barytwasser bis zum Ausbleiben der HNO_3-Reaktion und zerlegt in analoger Weise, wie schon früher erwähnt, das Silbersalz des Arginins. Im Filtrat wurde die Menge des Arginins in Form des N-Gehalts festgelegt.

Arginin.

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge g	Fraktionsstickstoffmenge dmg	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
	Lymphdrüse.		
41°	0,0560	36	10,0
43	0,0385	32	8,8
50	0,0245	23	9,7
53	0,0217	19	9,0
56	0,0198	16	8,9
61	0,0169	14	8,7
	Nebenniere.		
41°	0,0707	38	5,4
45	0,0427	26	5,3
50	0,0319	17	5,4
53	0,0253	14	5,9
56	0,0140	7	5,0
61	0,0119	8	6,9

In dem Filtrat der vereinigten Histidin- und Arginin-Silbersalze fällt man das Baryt und Silbersalz mit H_2SO_4 bzw. H_2S aus, reinigt die Niederschläge gründlich mit heißem Wasser und versetzt das gesamte Filtrat und Waschwasser zum Zwecke der Ausfällung des Lysins mit Phosphorwolframsäure. Nach 24stündigem Absitzen des Niederschlags wurde dieser

abfiltriert, mit kochendem Wasser aufgeschwemmt, bis zur stark alkalischen Reaktion mit Barytwasser versetzt und dadurch die Phosphorwolframsäure ausgefällt. Das überschüssige Baryt entfernt man durch Einleiten von CO_2, filtriert den Niederschlag ab und stellt den N-Gehalt des Lysins in der Lösung fest.

Die folgende Tabelle zeigt die gefundenen Werte.

Lysin.

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge g	Fraktionsstickstoffmenge g	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
	Lymphdrüse.		
41°	0,054	0,0068	10,4
45	0,0440	0,0058	13,3
50	0,0280	0,0116	41,7
53	0,0248	0,0028	11,7
56	0,0220	0,0098	44,7
61	0,0192	0,0092	40,0
	Nebenniere.		
41°	0,0808	0,0118	14,6
45	0,0498	0,0073	15,0
50	0,0364	0,0058	16,0
53	0,0290	0,0047	16,7
56	0,0160	0,0030	18,0
61	0,0136	0,0022	16,0

Die N-Bestimmung des Filtrats von der Phosphorwolframsäurefällung zeigte den noch vorhandenen Gehalt an Aminosäuren an.

Aminosäuren.

Koagulierte Temperatur	Gesamtstickstoffmenge g	Fraktionsstickstoffmenge g	Verhältnis der Fraktions- zur Gesamtstickstoffmenge Proz.
	Lymphdrüse.		
41°	0,0720	0,0390	54,2
45	0,0495	0,0253	51,0
50	0,0315	0,0069	22,0
53	0,0279	0,0135	48,7
56	0,0248	0,0062	25,0
61	0,0216	0,0046	21,7
	Nebenniere.		
41°	0,0909	0,0487	53,6
45	0,0549	0,0301	54,8
50	0,0410	0,0238	58,0
53	0,0326	0,0172	52,9
56	0,0180	0,0096	53,9
61	0,0153	0,0087	56,9

B. Quantitative Schwefelbestimmungen.

Zur Bestimmung des Schwefelgehalts (herrührend vom Cystin) wurden die Koagulate in verdünnter NaOH gelöst. Ein aliquoter Teil

wurde mit $NH_4HNO_3 + Na_2CO_3$ eingedampft und geglüht. Die Asche wurde nach dem Erkalten in verdünnter HCl gelöst und in $BaCl_2$ gefällt. In einem anderen Teil der obigen Lösung wurde der Gesamtstickstoffgehalt ermittelt um das Verhältnis N : S in den einzelnen Fraktionen festzustellen.

Koagulierte Temperatur	Stickstoffmenge g	Schwefel dmg	Schwefel Proz.
	Lymphdrüse.		
41°	0,0136	22	2,6
45	0,0102	18	2,8
50	0,0076	17	3,8
53	0,0190	36	3,1
56	0,0123	24	3,2
61	0,0043	8	3,0
	Nebenniere.		
41°	0,0120	17	2,3
45	0,0113	12	1,7
50	0,0170	33	3,1
53	0,0088	14	2,6
56	0,0103	19	3,0
61	0,0155	29	3,0

C. Quantitative Phosphorbestimmung.

Die bereits früher erwähnten Untersuchungen haben bei beiden Organen in je drei Fraktionen die Anwesenheit von Phosphor ergeben.

Dieser kommt bei den Eiweißsubstanzen in verschiedener Form vor. In den Phosphorproteinen, phosphorhaltigen Eiweißsubstanzen, die teils Nucleoalbumin, teils Lecithalbumin sind, und in den Nucleoproteiden, zusammengesetzten Proteinen, welche als nächste Spaltprodukte Eiweiß und Nucleinsäure liefern.

Durch die Verdauungsversuche konnten wir feststellen, daß in beiden Organen je ein Nucleoproteid vorliegt, und zwar bei der Lymphdrüse in der dritten Fraktion, bei der Nebenniere hingegen in der ersten Fraktion.

Außerdem kommt Phosphor noch in je zwei Fraktionen bei den Organen vor, ohne aber Proteincharakter zu haben, wie die Verdauungsproben ergaben. Es kann sich auch unmöglich um Körper handeln, die als Nucleoalbumin anzusehen sind (wie Casein), sondern nach den Koagulationspunkten müssen diese Substanzen als Globuline, also Nucleoglobuline, bezeichnet werden.

Die quantitativen Bestimmungen des Phosphorgehalts wurden nach der *Neumann*schen Methode ausgeführt und ergaben folgende Resultate.

Koagulierte Temperatur	Eiweißgehalt mg	Phosphor mg	Proz. Phosphorgehalt des Proteins in der Eiweißfraktion
	Lymphdrüse.		
41°	84,3	1,3	1,6
45	31,0	0,1	0,3
50	31,0	0,6	2,0
	Nebenniere.		
41°	77,5	2,2	2,9
53	51,2	1,1	2,2
56	39,0	1,0	2,8

Zusammenfassung.

Vorstehende Tabellen zeigen vor allem zum erstenmal eine systematische Untersuchung der verschiedenen Eiweißfraktionen der Lymphdrüse und Nebenniere. Dabei hat sich herausgestellt, daß die Annahme von einem Organeiweiß dahin zu erweitern ist, daß es verschiedene Organeiweiße gibt, indem erstens in jedem Organ mehrere Eiweißfraktionen nach Koagulationspunkt, nach Aussalzung, nach Gehalt an einzelnen Atomgruppen und insbesondere an Phosphorkörpern sich unterscheiden und zweitens die Fraktionen in verschiedenen Organen verschieden sind.

Sehr bemerkenswert erscheint auch der Nachweis von Eiweißsubstanzen in den Organen, die bereits bei 41° koagulierten, worin chemisch die Schädigung beruhen mag, die der menschliche Organismus erleidet, wenn seine Temperatur über 41° steigt, und die sogar spezifisch ist, nicht mit dem Lebensprozeß an und für sich zusammenhängt, da bei verschiedenen Tierspezies verschieden hohe Temperaturen vertragen werden können. Da es bei der Untersuchung des Blutes bisher nicht gelungen ist, eine chemische Veränderung durch Erhitzen auf diese Temperatur zu erzeugen, so ist durch unsere Untersuchungen eine Grundlage für die Annahme gegeben, daß sich die chemische Schädigung bei einer Temperatur von über 41° nicht im Blute, sondern im Gewebe abspielt.

Diese Verschiedenheit der Eiweißsubstanzen besteht aber einerseits nicht darin, daß einzelne Bausteine ganz fehlen, sondern daß vielmehr die wichtigsten Bausteine bei den beiden Organen in ungleich großer Menge vorhanden sind.

Die Vielheit der Eiweißstoffe der Organe gegenüber der Einfachheit der in der Blutflüssigkeit vorkommenden Proteine erscheint auch in physiologischer Hinsicht sehr bemerkenswert.

Wenn das Blut das Verkehrsmittel für die Chemikalien darstellt, die jeweilig momentan gebraucht und verbraucht werden, so muß in den Zellen der Organe ein Depot existieren, sowohl als Reservematerial wie als Muttersubstanz. Ds ist es nun sehr begreiflich, daß für die verschiedenen Zellfunktionen verschieden zusammengesetzte Eiweißfraktionen existieren, wie sie sich schon in verschiedener Koagulationsfähigkeit dokumentieren.

Zur Kenntnis der Eiweißkörper des Ovariums.

Von

Elsa Meiersdorf.

(Aus dem chemisch-pathologischen Laboratorium der Krankenanstalt „Rudolfstiftung" in Wien.)

(Eingegangen am 25. Juni 1926.)

Im Gegensatz zu der wichtigen und bekannten Wirksamkeit der Ovarien liegen eingehende Analysen derselben nicht vor, ja sogar bezüglich der wichtigsten Zellbestandteile der Organzellen, der Nucleoproteide, ist das Studium nur einseitig betrieben worden, indem zwar über die Nucleoanteile eingehende Studien vorliegen, aber über den Proteidanteil außer der Angabe, daß ein biuretgebender Eiweißkörper abgetrennt wird, nichts bekannt ist.

Wir haben uns zur Aufgabe gestellt, die Analyse der Ovarien in bezug auf Eiweißkörper vorzunehmen, und insbesondere die Kenntnis über den Proteidanteil der Nucleoproteide des Eierstocks zu erweitern.

Als Untersuchungsmaterial wurde, um von den unspezifischen Gerüstsubstanzen des Organs unabhängig zu sein, ein 0,6proz. Kochsalzextrakt von Ovarien (490 g) benutzt, der bis zur völligen Extraktion 1900 ccm betrug.

Es wurde der Gesamtstickstoff- und Kohlenstoffgehalt sowie auch die Gesamt-Trockensubstanz bestimmt, weiterhin der Gehalt an Globulinen, Pseudoglobulinen und Albuminen sowie Fällungsgrenzen und Koagulationspunkte der einzelnen Eiweißkörper ermittelt und schließlich von Eiweißabbauprodukten der Gehalt an Albumosen und Peptonen, Peptiden und Diaminosäuren und Aminosäuren ermittelt.

Die Bestimmung der Eiweißabbauprodukte wurde folgendermaßen vollzogen: 250 ccm des Kochsalzauszugs der Ovarien wurden mit Essigsäure gefällt, koaguliert und filtriert, das Filtrat auf ein Volumen von 150 ccm gebracht.

Vom Filtrat wurden mit einem Teile Stickstoffbestimmungen gemacht (Summe der *Eiweißabbauprodukte*), ein Teil wurde mit *Gerbsäure* gefällt, der so erhaltene Niederschlag in Lauge gelöst und kjeldahlisiert (Gehalt an *Albumosen und Peptonen*). Das Filtrat gibt mit Phosphorwolframsäure einen Niederschlag. Dieser Niederschlag wird abfiltriert,

in Lauge gelöst und ebenfalls kjeldahlisiert, um den Gehalt an *Peptiden und Diaminosäure* zu bestimmen.

Mit dem phosphorwolframsauren Filtrat wurden Stickstoffbestimmungen gemacht und die *Aminosäuren* bestimmt.

Zusammenstellung der Analysenwerte.

Gesamttrockensubstanz = 28,595 g.

Gesamt-N	= 3,657 g	12,78 Proz.
Gesamt-C	= 16,24 g	56,79 „

Werte der Ammonsulfatfällung.

$^1/_3$ Sättigung Stickstoffwerte (*Euglobuline*).

Wasserlöslicher Teil	= 0,1496 g N	= 0,52 Proz. N
In 2proz. Na_2CO_3 löslicher Teil	= 0,116 g N	= 0,40 „ N
Unlöslicher Rest	= 0,4816 g N	= 1,69 „ N
Summe	= 0,7472 g N	= 2,61 Proz. N

$^1/_2$ Sättigung Stickstoffwerte (*Pseudoglobuline*).

Wasserlöslicher Teil	= 0,3486 g N	= 1,22 Proz. N
In 2proz. Na_2CO_3 löslicher Teil	= 0,0498 g N	= 0,17 „ N
Unlöslicher Rest	= 0,115 g N	= 0,40 „ N
Summe	= 0,5134 g N	= 1,79 Proz. N

Ganzsättigungswerte (*Albumine*) = 0,8977 g N = 3,13 Proz. N

Werte der Ammonsulfatfällungen.

0,7472 g N	= 2,61 Proz. N	(Euglobuline)
0,5134 g N	= 1,79 „ N	(Pseudoglobuline)
0,8977 g N	= 3,13 „ N	(Albumine)
Summe 2,1583 g N	= 7,53 Proz. N	

Werte der Hauptfraktionen der stickstoffhaltigen Substanz.

Gesamtstickstoff	= 3,657 g	= 12,78 Proz.
Stickstoff der Fällungen mit Ammonsulfat (Eiweiß)	= 2,159 g	= 7,53 „
Essigsäurefiltratstickstoff (Eiweißabbauprodukte)	= 1,45 g	= 5,07 „

Stickstoffwerte der Fraktionen der Eiweißabbauprodukte.

Gesamt-N des Essigsäurefiltrats (Eiweißabbauprodukte)	= 1,45 g	= 5,07 Proz.
Gerbsäure Fällungsstickstoff (Albumosen und Peptone)	= 0,319 g	= 1,11 „ N
Ph-Wolframsäure Fällungsstickstoff (Peptide und Diaminsäuren).	= 0,42 g	= 1,47 „
Wolframsäure Filtratstickstoff (Aminosäuren)	= 0,79 g	= 2,48 „ N

Die berechneten Werte sind auf die Gesamtmenge des Kochsalzauszugs und die in Prozenten ausgedrückten Werte auf die Gesamttrockensubstanz bezogen.

Feststellung der Fällungsgrenzen mittels Ammonsulfat.

In neun Eprouvetten wurde je 1 ccm Flüssigkeit mit 9, 8, 7 usw. bis 1 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt und alle durch Verdünnung mit Wasser auf ein Volumen von 10 ccm gebracht.

1 ccm wurde mit

9	ccm	gesättigter	Ammonsulfatlösung	versetzt					
8	"	"	"	+ 1	ccm	Wasser	versetzt		
7	"	"	"	+ 2	"	"	"		(vollständige Ausflockung)
6	"	"	"	+ 3	"	"	"		(dritte Ausflockung)
5	"	"	"	+ 4	"	"	"		(zweite Ausflockung)
4	"	"	"	+ 5	"	"	"		(erste Ausflockung)
3	"	"	"	+ 6	"	"	"		
2	"	"	"	+ 7	"	"	"		
1	"	"	"	+ 8	"	"	"		

Koagulationstemperaturen des Ovarienextraktes.

Es ließen sich bei Einstellung der bekannten Kautelen sieben deutliche Koagulationspunkte durch Erhitzen feststellen, und zwar bei 43, 52, 59, 64, 70, 73 und 77°.

Es zeigt sich, daß sich in Ovarien eine ganze Reihe von verschiedenen Eiweißsubstanzen befindet, die sich von den Koagulationspunkten des Serumalbumins und Serumglobulins durch ihre frühere Koagulationstemperatur unterscheiden, so daß wir es mit charakteristischem Organeiweiß zu tun haben. Die weitere Untersuchung des Nucleoproteids bezog sich auf zwei Fragen:

1. Wie groß ist der Proteidanteil im Nucleoproteid?
2. Ist dieser Eiweißanteil spezifischer Natur?

Als erstes Erfordernis für die Durchführung dieser Fragen erschien die Reindarstellung des Nucleoproteids notwendig. Wir haben uns für die Essigsäuremethode entschieden, da diese die rascheste Arbeit bei gewöhnlicher Temperatur gestattet. Zu diesem Zwecke wurden 35 g Ovarien mit 0,6proz. NaCl ausgezogen, mit Essigsäure gefällt, der Niederschlag zur Reindarstellung mehrmals gewaschen, in Natriumcarbonatlösung gelöst und gefällt. Der so dargestellte reine Niederschlag wurde, nachdem man sich überzeugt hatte, daß im Filtrat keine Spuren von organischer Substanz mehr vorhanden waren, in 2proz. Na_2CO_3 gelöst, auf ein Volumen von 335 ccm gebracht und mit der so erhaltenen Lösung Untersuchungen angestellt.

Was die Spaltung betrifft, so wird diese gewöhnlich mit Salzsäurepepsin gemacht. Wir haben diese Spaltung mit einem sehr kräftigen Pepsinpräparat vollzogen; da jedoch die nicht koagulierbaren, stickstoff-

haltigen Anteile des Pepsinpräparats relativ hoch, bzw. höher als die zu erwartenden Spaltprodukte des Nucleoproteids waren, haben wir uns entschlossen, die Spaltung lediglich mit Salzsäure vorzunehmen. Zu diesem Zwecke wurden 75 ccm des in 2proz. kohlensaurem Natron gelösten Essigsäurekörpers mit 20proz. Salzsäure und Wasser versetzt, eine 4proz. Lösung hergestellt und so lange erhitzt, bis eine kleine entnommene Probe bei weiterem Erhitzen mit Salzsäure klar bleibt, was als Beweis, daß die Spaltung beendet ist, gelten konnte. Der Niederschlag wurde abfiltriert und in 2proz. kohlensaurem Natron gelöst. Für die Isolierung der peptonisierten Eiweißkörper standen uns die Fällungen mit den sogenannten Alkaloidreagenzien, wie Gerbsäure, Phosphormolybdänsäure, Phosphorwolframsäure, Jodjodkalium, Kaliumquecksilberjodid und Kaliumwismutjodid und weiter Aussalzungen insbesondere mit Ammonsulfat zur Verfügung. Wir haben uns überzeugt, daß Gerbsäure einen sehr geringen und Phosphorwolframsäure einen wesentlich stärkeren Niederschlag gibt und mit Ammonsulfat nur bei Ganzsättigung ein Niederschlag zu erhalten ist, so daß es dadurch klar war, daß es sich um ein Gemenge von Albumosen Peptonen und eventuell weiter abgebauten Produkten handeln mußte.

Für den von *Fischer* und *Abderhalden* so oft beschrittenen Weg der Klarstellung der Bausteine sind Substanzmengen nötig, die uns nicht zur Verfügung standen. Wir waren daher gezwungen, einen anderen Weg zu suchen. Wir haben mit den uns zur Verfügung stehenden Substanzen jene Farbenreaktionen der Eiweißkörper kolorimetrisch ausgewertet, die bestimmten Gruppen von Bausteinen entsprechen.

Für die Farbenreaktionen standen uns folgende Methoden zur Verfügung:

1. *Biuretreaktion.*
2. *Die Xanthoproteinreaktion.*
3. *Millonsche Reaktion.*
4. *Reaktion von Molisch.*
5. *Liebermannsche Reaktion.*
6. *Die Reaktion von O. Neubauer und E. Rohde.*
7. *Schwefelbleireaktion.*
8. *Chinonreaktion von Wurster* zum Nachweis von Aminosäuren.

Wenn nun die angeführten Reaktionen auch nicht die Repräsentanten geradezu aller Bausteine sind, so sind sie doch Repräsentanten der wichtigsten Gruppen, und es lassen sich unschwer bei Vergleich

der Reaktionen an verschiedenen Eiweißkörpern deutliche Unterschiede feststellen. Dazu ist allerdings die Einhaltung zweier Forderungen notwendig: Es müssen vor allem die Reaktionen mit geradezu mikrochemischer Genauigkeit durchgeführt werden, sowohl in bezug auf die Art und Menge der Reagenzien, sowie auf die Gleichartigkeit der Durchführung, und es muß zweitens eine Vergleichsmöglichkeit geschaffen werden, die darin gelegen ist, daß ein Standardeiweißkörper angenommen wird, dessen Reaktionslösungen einen kolorimetrischen Maßstab abgeben. Für diesen letzten Zweck mußte ein Einheitsfaktor geschaffen werden, als den wir den Stickstoffgehalt bzw. dessen Beziehung zum Trockengehalt gewählt haben. In bezug auf die Erfüllung der ersten Forderung haben wir Reagenzien von bestimmter Konzentration dargestellt und die Reaktionen in gleich großen Eprouvetten, mit gleich großer Tropfenzahl und gleicher Durchführungsart vorgenommen. Für die Standardisierung des Eiweißkörpers haben wir ein Wittepepton von 17 Proz. N-Gehalt gewählt.

Die Untersuchungen ergeben bei gleichem Stickstoffgehalt eine zehnmal schwächere Biuret-, zweimal schwächere Xanthoprotein-, viermal stärkere Molischreaktion und zweimal stärkere Chinonreaktion. Millon und Schwefelblei negativ. (Übersicht in der Schlußtabelle.)

Aus diesen Resultaten ergab sich die Frage, ob diese Substanz, die man wegen der positiven Biuretreaktion und Xanthoproteinreaktion, wegen ihrer Aussalzbarkeit und Fällbarkeit durch Ammonsulfat, Phosphorwolframsäure und Gerbsäure als Eiweißsubstanz ansehen mußte, vielleicht dadurch als besonderer Eiweißkörper charakterisiert werden konnte, daß man den Gehalt an Phosphor nachweisen konnte, also ob es etwa eine Phosphoralbumose sei. — Die qualitativen Phosphorbestimmungen ergaben beim kurzen Erwärmen mit Salpetersäure und Ammonmolybdat keine Phosphorsäure, wohl aber beim längeren Erhitzen. Es hat sich weiter gezeigt, daß, während die native Flüssigkeit mit Chlorcalcium und Ammoniak keinen phosphorhaltigen Niederschlag gibt, dieser entsteht, wenn man vorher mit Säure gekocht hat.

Die quantitativen Prüfungen auf Phosphor haben das überraschende Resultat ergeben, daß relativ hohe Phosphatmengen nachweisbar waren (s. Schlußtabelle).

Der Nachweis eines solchen Gehaltes in dieser Flüssigkeit mußte aber besonders kritisch betrachtet werden, weil bei den nicht immer quantitativ vor sich gehenden Spaltungen der biochemischen Substanzen es auch möglich gewesen wäre, daß der Phosphor von Spuren des Nucleoproteids stamme, das noch ungespalten in Lösung gewesen

war. Ein nochmals vorgenommener Weiterspaltungsversuch änderte aber nichts an dem Resultat.

Die quantitativen Phosphorbestimmungen wurden nach der Methode von *Neumann* ausgeführt.

Tabellarische Übersicht.

Trockensubstanz des Nucleoproteids = 3,01 g.

Werte des Nucleoproteids.

	Nucleoproteid	
	g	Proz.
N	0,569	18,9
C	1,381	45,2
P	0,1302	4,3

Die in Prozenten ausgedrückten Werte sind auf die Gesamttrockensubstanz des Nucleoproteids bezogen.

Trockensubstanz des Spaltungsniederschlags = 1,73 g.

Werte des Spaltungsniederschlags.

	Nucleoanteil	
	g	Proz.
N	0,323	18,6
C	0,663	38,3
P	0,062	3,5

Die in Prozenten ausgedrückten Werte sind auf die Trockensubstanz des Spaltungsniederschlags bezogen.

Trockensubstanz des Spaltungsfiltrats = 1,28 g.

Werte des Spaltungsfiltrats.

	Proteidanteil	
	g	Proz.
N	0,197	15,3
C	0,671	52,4
P	0,0666	5,1

Die in Prozenten ausgedrückten Werte sind auf die Trockensubstanz des Spaltungsfiltrats bezogen.

Tabellarische Übersicht über die Farbenreaktionen.

	N-Gehalt g	N-Gehalt Proz.	Biur.	Xant.	Mill.	Mol.	Trypt.	Schwefelblei	Chinon
1 ccm *Witte*-Peptonlösung	0,0001	17	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	neg.	pos.
1 ccm verdünnte Titratlösung .	0,0001	16,6	10 mal schwächer	2 mal schwächer	neg.	4 mal stärker	Spuren	neg.	2 mal stärker

Zusammenfassung.

Es ergibt sich demnach ein starker Unterschied des peptonisierten, abgespaltenen Proteinanteils des Ovarien-Nucleoproteids gegenüber Pepton, das aus einem Volleiweißkörper erzeugt ist, wie das Wittepepton. Es zeigt sich weiter ein wesentlich geringerer Gehalt an Tryptophan und Indolgruppen, während der Gehalt an Kohlehydraten und Aminosäuren wesentlich erhöht erscheint.

Wirkung N-haltiger Substanzen auf die Hefegärung. V.

Von

Heinrich Zeller.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik zu Königsberg i. Pr.)

(Eingegangen am 30. Juni 1926.)

Die Steigerung der Hefegärung durch verschiedene Ammonsalze legte es nahe, die Wirkung anderer N-haltiger Stoffe, die körpereigen sind, zu untersuchen. Das Zunächstliegende war die Prüfung mit Aminosäuren.

Schon früher wurde erwähnt, daß zu Hefekulturen häufig Aminosäuren zugesetzt wurden, meist wurde Asparagin verwandt. *Dieter* hat unter Leitung von *Thomas* gezeigt, daß obergärige Reinzuchthefe aus Asparagin und einigen anderen Säureamiden den Amidstickstoff nicht abspalten kann. Die Spaltung, die in den bisherigen Versuchen nachgewiesen wurde, wird auf die Mitwirkung anderer Mikroorganismen zurückgeführt. *Neuberg* hat bei einer Anzahl stickstoffhaltiger Substanzen, besonders beim Aldehydammoniak, starke Stimulation der zellfreien Hefegärung nachgewiesen. Außerdem hatte *Neuberg* früher gezeigt, daß ein Teil der Aminosäuren und Abkömmlinge von ihnen zuckerfrei vergoren werden können (Carboxylasewirkung). *Meissner* fand, daß manche Kahmhefen Asparagin nicht verwerten können. *Lieben* sah bei Zusatz von Aminosäuren zu sauerstoffgeschüttelter Hefe keine wesentliche Zerstörung derselben, nur bei Asparaginsäure fand er eine stärkeren Abbau angedeutet. *Lindberg* machte Versuche mit Trockenhefe, teilweise auch mit ausgewaschener frischer Hefe unter Zusatz von Milch als Vitamin und fand eine Steigerung der Gärtätigkeit. *Orient* konnte bei Zusatz von Kreatin zur Hefe keine Steigerung finden, dagegen bei salzsaurem Glucosamin.

Versuch mit Glykokoll, Alanin, Histidinchlorhydrat.

50 g Hefe, 125 g Zucker, 2500 g Wasser werden der einstündigen Gärung überlassen. Jedes Kölbchen erhält davon 100 ccm. Drei werden Kontrolle, die übrigen 3 × 6 erhalten je 0,1, 0,025, 0,25, 0,1, 0,25 und 0,5 g von Glykokoll, Alanin, Histidinchlorhydrat. Zimmertemperatur.

Zeit	Kontrolle	0,01 g	0,025 g	0,05 g	0,1 g	0,25 g	0,5 g
			Glykokoll.				
1h00 bis 41′	30	27	31	30	30	30	21
3 03 „ 30	30	27	31	30	29	29	28
4 21 „ 47	30	30	31	30	30	31	29
Am anderen Tage	30	32	32	31	31	32	34

Zeit	Kontrolle	0,01 g	0,025 g	0,05 g	0,1 g	0,25 g	0,5 g
			dl-Alanin.				
1h00 bis 41′	30	28	26	27	25	25	20
3 03 „ 30	30	30	29	31	30	31	32
4 21 „ 47	30	30	31	33	34	38	45
Am anderen Tage	30	29	28	29	36	40	46
			dl-Histidinchlorhydrat.				
1h00 bis 41′	30	31	26	26	24	22	17
3 03 „ 30	30	32	30	31	30	30	29
4 21 „ 47	30	32	31	31	32	32	30
Am anderen Tage	30	30	28	28	29	29	30

Glykokoll hat auf die Hefegärung keinen Einfluß, auch am folgenden Tage ist die Wirkung unverändert. Alanin weist eine Hemmung zu Beginn auf, die langsam in eine Steigerung von 50 Proz. übergeht. Wird zu Alanin etwas Ammoniak zugesetzt, so ergeben sich dieselben Werte wie die hier angegebenen. Histidinchlorhydrat zeigt bei starker Konzentration eine Hemmung zu Beginn, die sich später ausgleicht, sonst ist es wirkungslos.

Versuch mit Cystin, Leucin und Tryptophan.

50 g Hefe, 125 g Zucker, 2500 g Wasser werden der einstündigen Gärung überlassen. Jedes Kölbchen bekommt davon 100 ccm. Drei Kölbchen werden Kontrolle. Die übrigen erhalten die unten bezeichneten Mengen Cystin, Leucin, Tryptophan. Das Cystin wird in etwas Soda gelöst. Alle Kölbchen werden auf dasselbe Volumen gebracht. Zimmertemperatur.

Zeit	Kontrolle	0,01 g	0,025 g	0,05 g	0,1 g	0,25 g	0,5 g
			Cystin.				
1h30 bis 2h30′	30	36	35	35	32	18	11
4 50 „ 5 34	30	30	31	33	33	29	28
6 20 „ 7 05	30	30	31	33	33	30	27
Am anderen Tage	30	32	31	32	32	34	32
			Leucin.				
1h30 bis 2h30′	30	33	36	33	34	28	28
4 50 „ 5 34	30	29	31	35	38	38	42
6 20 „ 7 05	30	31	32	38	39	38	45
Am anderen Tage	30	30	28	27	27	28	35

Zeit	Kontrolle	0,005 g	0,01 g	0,025 g	0,05 g	0,1 g	0,25 g
			Tryptophan.				
1h30 bis 2h30′	30	29	28	26	27	26	20
4 50 „ 5 34	30	32	29	30	26	28	26
6 20 „ 7 05	30	34	32	34	38	40	42
Am anderen Tage	30	32	35	33	43	44	44

Leucin steigert in hoher Konzentration bis zu 50 Proz. Cystin hemmt zu Beginn in stärkerer Konzentration, wahrscheinlich infolge Sodazusatzes; später zeigen alle Flaschen dieselben Werte. Tryptophan hemmt in hoher Konzentration zu Beginn, steigert später bis zu 50 Proz.

Versuch mit Asparagin, Asparaginsäure, Alanylalanin.

50 g Hefe, 2500 g Wasser, 125 g Zucker werden der einstündigen Gärung überlassen. Jedes Kölbchen erhält 100 ccm. Drei bleiben Kontrolle, die übrigen 3×6 erhalten 0,01, 0,025, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 g von Asparagin, Asparaginsäure, Alanylalanin.

Zeit	Kontrolle	0,01 g	0,025 g	0,05 g	0,1 g	0,25 g	0,5 g
			Asparagin.				
1h00 bis 2h10′	30	36	42	48	42	40	29
3 33 „ 4 12	30	40	45	59	60	61	63
5 28 „ 6 06	30	37	41	53	59	58	63
Am anderen Tage	30	29	28	27	28	30	30
			Asparaginsäure.				
1h00 bis 2h10	30	35	36	32	32	30	26
3 33 „ 4 12	30	35	36	35	39	33	34
5 28 „ 6 06	30	29	28	27	32	35	38
Am anderen Tage	30	26	26	28	27	35	43
			Alanylalanin.				
1h00 bis 2h10′	30	36	34	31	30	28	21
3 33 „ 4 12′	30	40	43	38	36	36	38
5 28 „ 6 06	30	32	30	30	35	36	36
Am anderen Tage	30	30	30	33	34	36	36

Asparagin steigert über 100 Proz. schon bei kleinen Dosen. Eine geringe Ammoniakabspaltung ist nachweisbar, sie ist jedoch so gering, daß sie als Ammoniakwirkung für die hoch steigernde Wirkung des Asparagins nicht zur Erklärung in Betracht kommt. Asparaginsäure zeigt eine durchschnittliche optimale Steigerung bis zu 33 Proz. Durch geringen Zusatz

von Ammoniak ist es möglich, die Wirkung der Asparaginsäure auf die Höhe des Asparagins zu bringen. Alanylalanin steigert durchschnittlich um 33 Proz., wobei auffällt, daß diese Steigerung auch schon bei kleinen Dosen auftritt.

Versuch mit Alkohol, Kreatin, Kreatinin, Glucosamin.

Jedes Kölbchen hat 100 ccm 2proz. Hefe mit 5 Proz. Zucker. Dazu kommen aufsteigende Mengen obiger Substanzen. Temperatur 24°.

Zeit	Kontrolle	0,05 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm
				Alkohol.			
3h30 bis 50′	30	30	29	30	31	30	30
4 09′	30	31	31	30	31	32	30
4 30	30	29	30	29	30	28	28
4 51	30	29	31	30	29	28	28
5 12	30	30	29	30	29	28	28

Zeit	Kontrolle	0,01 ccm	0,025 ccm	0,05 ccm	0,1 ccm	0,25 ccm	0,5 ccm
				Kreatin.			
3h30 bis 50′	30	30	30	28	30	30	29
4 09′	30	29	30	28	30	31	29
4 30	30	31	32	31	32	32	30
4 51	30	30	32	31	33	32	30
5 12	30	30	30	30	33	32	32
				Kreatinin.			
3h30 bis 50′	30	29	32	35	30	25	17
4 09′	30	30	34	33	30	26	20
4 30	30	31	28	30	30	28	28
4 51	30	31	31	32	33	31	30
5 12	30	33	30	30	32	32	34
				Glucosamin.			
3h30 bis 50′	30	31	26	26	22	19	15
4 09′	30	30	26	27	23	22	18
4 30	30	32	31	30	23	22	23
4 51	30	33	31	31	25	25	26
5 12	30	33	32	32	26	25	26

Alkohol wurde hier mit untersucht, um seine Wirkungslosigkeit in kleinen und mittleren Dosen auf die Gärtätigkeit zu zeigen. Kreatin ist ohne Einfluß. Kreatinin zeigt in starker Konzentration eine Hemmung, die sich langsam ausgleicht. Glucosamin weist in stärkerer Konzentration eine mäßige Hemmung auf.

Versuch mit Casein, Erepton, Pepsin Witte.

21 Flaschen erhalten je 100 ccm 2proz. Hefelösung mit 5 Proz. Zucker. Sie erhalten Casein gelöst in etwas Soda, Erepton und Pepton *Witte* in drei Serien, davon ist Flasche 1 Kontrolle, die nächsten erhalten 0,01, 0,025, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 g. Temperatur 22°.

Zeit	Kontrolle	0,015 g	0,025 g	0,05 g	0,1 g	0,25 g	0,5 g
			Casein.				
1h00 bis 2h44'	30	68	80	65	47	50	36
3 27'	30	54	62	50	36	46	40
4 01	30	31	36	31	17	4	35
4 50	30	27	30	30	18	5	3
5 30	30	25	26	24	22	5	3
6 12	30	25	26	27	23	2	4
			Erepton.				
1h00 bis 2h44'	30	30	30	31	37	42	45
3 27'	30	30	29	37	37	45	50
4 01	30	33	32	40	41	50	58
4 50	30	32	28	36	38	51	61
5 30	30	30	28	38	36	49	59
6 12	30	31	30	35	34	46	57
			Pepton *Witte*.				
1h00 bis 2h44'	30	30	32	32	38	40	40
3 27'	30	35	36	36	37	37	39
4 01	30	36	37	36	35	36	36
4 50	30	35	35	36	37	36	38
5 30	30	34	35	35	36	38	38
6 12	30	34	34	36	36	38	37

Casein *Hammarsten* bewirkt in kleinen Dosen eine hohe Steigerung bis zum 2½fachen der Norm. Es ist dann auffallend, daß die Werte schnell absinken, bei den hohen Dosen beinahe auf 0. Die Ursache liegt in einer Gerinnung des Caseins, dadurch wird ein Teil der Hefe mitgerissen. Erepton weist eine Steigerung bis um 100 Proz. auf, die hauptsächlich auf leicht abspaltbares Ammoniak zurückzuführen ist. Pepton *Witte* steigert optimal um 33 Proz.

Versuch mit Fleischextrakt.

Vier Portionen Fleisch zu je 50 g, von denen zwei gehackt sind, werden mit 50 ccm Wasser 1 Stunde lang extrahiert. Der Extrakt von je zwei Portionen wird gekocht. 21 Flaschen erhalten je 100 ccm mit 5 Proz. Hefe und 5 Proz. Zucker.

Zeit	Kontrolle	5 ccm	10 ccm	20 ccm	5 ccm	10 ccm	20 ccm
		Extrakt aus ungehacktem Fleisch.					
		ungekocht			gekocht		
11h00 bis 25'	30	30	28	28	35	35	35
11 38'	30	30	29	28	38	40	40
11 50	30	20	20	15	30	32	35
12 03	30	30	25	21	30	32	36
12 15	30	28	30	30	28	32	36

Zeit	Kontrolle	5 ccm	10 ccm	20 ccm	5 ccm	10 ccm	20 ccm
		Extrakt aus gehacktem Fleisch.					
		ungekocht			gekocht		
11h00 bis 25′	30	32	28	25	30	30	30
11 38′	30	28	28	23	29	29	30
11 50	30	25	23	21	30	32	32
12 03	30	22	25	30	30	26	32
12 15	30	28	27	35	29	35	34

Zeit	Kontrolle	0,2 ccm Kreatin	10 ccm Urin	5E + 10U	5E + 10U	5E + 10U	5E + 10U
		Zusatz von je 5 ccm verschiedenen Fleischsaftes + 10 ccm Urin.					
11h00 bis 25′	30	7	36	35	39	14	35
11 38′	30	12	34	34	36	17	35
11 50	30	34	42	30	41	25	35
12 03	30	35	40	30	40	30	35
12 15	30	34	44	27	40	40	41

Ungekochter Fleischextrakt wirkt auf die Hefe hemmend, da das Extrakteiweiß nach einiger Zeit ausgefällt wird. Beim gekochten Extrakt wirkt der aus ungehacktem Fleisch besser. Zusatz von Fleischextrakt steigert die Hefegärung im Höchstfall um 33 Proz. Zusatz von Extrakt zusammen mit Urin übt keinen Einfluß auf die steigernde Wirkung des letzteren aus, abgesehen von der Hemmung, die das ausfallende Eiweiß des ungekochten Extraktes bewirkt.

Versuch mit Adrenalin, Clauden, Insulin.

Alle Kölbchen enthalten 100 ccm 2proz. Hefeaufschwemmung mit 5 Proz. Zucker. Temperatur 22°.

Zeit	Kontrolle	0,2 ccm	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm	5,0 ccm	7,0 ccm
		Suprarenin. hydrochlor. 1:1000.					
1h00 bis 1h30′	30	28	30	30	31	28	32
1 49′	30	30	32	31	33	30	32
2 10	30	29	31	30	32	30	31
2 30	30	28	32	30	32	30	31
2 51	30	29	31	30	29	31	32

Zeit	Kontrolle	0,05 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	0,5 ccm	0,7 ccm	1,0 ccm
		Clauden.					
1h00 bis 1h30′	30	29	32	34	35	33	33
1 49′	30	30	29	29	27	28	30
2 10	30	30	29	29	28	28	30
2 30	30	30	29	30	28	27	29
2 51	30	30	29	30	29	28	30

Zeit	Kontrolle	0,05 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm
			Insulin „Tetewop".				
1h00 bis 1h30'	30	35	37	38	38	30	12
1 49'	30	27	25	18	12	10	8
2 10	30	33	25	20	10	10	10
2 30	30	35	25	22	16	18	18
2 51	30	36	34	28	16	18	8

Suprareninum hydrochlor. weist keine Wirkung auf. Clauden ist ebenfalls wirkungslos. Insulin steigert in kleinen Dosen bis zu 15 Proz., bei größeren Dosen tritt eine starke Hemmung ein. Sie kann teilweise auf den Phenolgehalt des Insulins zurückgeführt werden, sicher aber nur bei der letzten Dosis, da schon die kleinen Konzentrationen eine vorübergehende Senkung aufweisen. Es tritt dabei eine ähnliche Ausfällung, d. h. Absitzen der Hefe auf, wie bei Zusatz von eiweißhaltigen Substanzen. Hierauf ist der Eintritt der Hemmung hauptsächlich zurückzuführen. Wird Insulin zu Casein, Edestin, Eiereiweiß, Pepton *Witte* zugesetzt, so findet eine *Ausflockung* statt, ebenfalls bei Serum, wenn Insulin in größerer Menge zugesetzt wird, sonst tritt nur eine vorübergehende Trübung auf.

Versuch mit Milch, Hämoglobin, Serum und Erythrocyten.

Jede Flasche enthält 800 ccm mit 1 Proz. Hefe und 5 Proz. Zucker. Dazu kommt:

Zeit	Kontrolle	1 ccm	2 ccm	5 ccm	10 ccm	20 ccm	50 ccm
			Rohe Milch.				
2h00 bis 20'	30	28	30	42	56	105	90
2 29'	30	29	30	45	50	54	46
2 38	30	30	30	32	32	27	15
2 48	30	31	30	32	32	30	31
2 57	30	29	29	30	31	30	32
			Gekochte Milch.				
2h00 bis 20'	30	31	32	48	108	120	105
2 29'	30	29	39	52	44	50	35
2 38	30	31	30	35	29	33	39
2 48	30	29	30	30	26	31	38
2 57	30	29	29	30	28	33	40

Zeit	Kontrolle	0,25 ccm Hämogl.	0,5 ccm Hämogl.	20 ccm Serum	40 ccm Serum	10 ccm Erythroc.	20 ccm Erythroc.
2h00 bis 20'	30	42	35	44	54	60	84
2 29'	30	18	15	28	26	40	44
2 38	30	16	15	25	23	25	28
2 48	30	18	14	28	28	25	30
2 57	30	15	17	29	30	28	28

Versuch mit 1,0 g Darmsaft, getrocknet, Pepsin, Pankreatin, Trypsin, Edestin, Ricin.

Zeit	Kontrolle	Darmsaft	Pepsin	Pankreatin	Trypsin	Edestin	Ricin
2h00 bis 20′	30	42	43	30	52	25	34
2 29′	30	29	37	28	30	17	24
2 38	30	25	37	27	26	17	25
2 48	30	17	36	29	19	10	24
2 57	30	11	31	31	18	11	29

Milch zeigt zu Beginn eine Steigerung, die das Vierfache der Norm erreichen kann. Die Wirkung geht dann rasch auf die Höhe der Kontrolle zurück, bei hoher Konzentration noch darunter. Dabei wird die Milch ausgefällt, ein Teil der Hefezellen wird mit dem Niederschlag mechanisch mitgerissen. Versuche mit Hämoglobin, Serum, Erythrocyten, Darmsaft, Trypsin, Edestin, Ricin zeigen dasselbe Verhalten wie Milch: Ausfällung der Eiweißkörper mit nachfolgender eventueller Gärhemmung. Pepsin und Pankreatin weisen keine derartige Wirkung auf.

Ergebnis.

Bei der Untersuchung körpereigener N-haltiger Stoffe stellt es sich heraus, daß die Aminosäuren verschieden auf die Hefegärung wirken: Glykokoll, Histidinchlorhydrat sind ohne Einfluß. Asparaginsäure, Alanylalanin steigern optimal um 33 Proz. Alanin, Tryptophan steigern um 50 Proz. Asparagin steigert um 100 Proz. Kreatin, Kreatinin, salzsaures Glucosamin sind ohne Einfluß, nur weist Glucosamin bei stärkerer Konzentration eine mäßige Hemmung auf. Pepton *Witte* steigert optimal um 33 Proz. Erepton steigert bis um 100 Proz.

Eiweißhaltige Flüssigkeiten werden von lebender Hefe im Verlauf der Gärung ausgefällt und können dabei die Hefe teilweise mitreißen, wodurch eine Hemmung der Gärtätigkeit vorgetäuscht werden kann. Bei Beginn der Gärung weist ein großer Teil der eiweißhaltigen Substanzen eine bedeutende Steigerung der Hefegärung auf. Untersucht wurde: Casein, Fleischextrakt, Milch, Hämoglobin, Serum, Erythrocyten, Darmsaft, Pepsin, Trypsin, Edestin, Ricin.

Clauden ist ohne Wirkung. Suprarenin weist ebenfalls keine Beeinflussung der Gärtätigkeit auf. Insulin steigert in kleinen Dosen die Gärtätigkeit, in größeren Dosen hemmt es. Die Hemmung ist teilweise auf das beigemischte Phenol zurückzuführen, zum größeren Teil beruht sie auf einer Ausflockung des Insulins; dabei werden Hefezellen mitgerissen.

Literatur.

Dieter, Zeitschr. f. physiol. Chem. **120**, 281. — *Lieben*, diese Zeitschr. **132**, 180, 1922. — *Lindberg*, ebendaselbst **132**, 110, 1922. — *Meissner*, Zeitschr. f. Gär. **3**, 113, — *Neuberg*, diese Zeitschr. **31**, 170, 1911; **32**, 323, 1911; **62**, 471, 1914; **67**, 21, 1914; **71**, 83, 1915; **88**, 145, 1918. — *Orient*, ebendaselbst **132**, 357, 1922; **144**, 353, 1924.

Steigerung der Hefegärung durch Urin. VI.

Von

Heinrich Zeller.

(Aus der medizinischen Universität zu Königsberg i. Pr.)

(Eingegangen am 30. Juni 1926.)

Gigon und *Odermatt* gingen von der Voraussetzung aus, daß die Polyneuritis alcoholica eine Avitaminose ist, die durch Ausschwemmung des Vitamins B infolge Alkoholgenusses entsteht. Zum Beweis ihrer Anschauung benutzten sie die *Fränkel*schen Beobachtungen, daß tierische und pflanzliche Extrakte die Hefegärung steigern können, und wie *Fränkel* führten sie die Ursache dieser Steigerung auf Vitamine zurück. Beim Zusatz von Urin zur Gärflüssigkeit fanden sie eine ziemlich hohe Steigerung der Kohlensäureentwicklung. Sie prüften dann eine Reihe von einzelnen Urinbestandteilen in bezug auf die Gärsteigerung und fanden, daß Kochsalz, Harnstoff, Harnsäure, Phosphorsäure und Calcium hemmend wirken, während Glykokoll, Sulfat, NaH_2PO_4 beschleunigen. Wird Urin im Autoklaven erhitzt, so verliert er den größten Teil seiner aktivierenden Kraft. Genuß von Alkohol verstärkt die Wirkung des Urins, während Einnahme von Traubenzucker sie herabsetzt. Extrakte von motorischen Wurzeln der Nerven wirken ebenfalls steigernd, besser als die von sensiblen Wurzeln.

Auf Grund anderer Überlegungen hatte ich unabhängig von *Gigon* und *Odermatt* ebenfalls die hoch steigernde Wirkung des Urins gefunden. Sieht man von der Steigerung der Triebkraft der Hefegärung ab, so wird durch keine Substanz außer dem *Euler*schen Biokatalysator *Z* die optimale Steigerung durch Hefe erreicht: Es ist unter geeigneten Bedingungen möglich, die Wirkung damit zu verdreifachen. Mit einer Mischung von Ammonsalzen, die Phosphat enthalten, ist es nur möglich, eine Steigerung um 150 Proz. zu erreichen, alle übrigen untersuchten Substanzen bleiben dagegen weit zurück. Da im Urin Ammoniak vorkommt, dazu die Bildung aus Harnstoff möglich ist, so kam als erstes in Betracht, die Steigerung des Urins mit Ammonsalzen in Verbindung zu bringen.

Die nächste Tabelle zeigt zunächst, wie verschieden der Urin von ein und derselben Person auf die Hefegärung wirkt.

Urin von verschiedenen Tageszeiten.

65 g Hefe, 500 g Zucker, 5600 g Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen und dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle, die anderen erhalten Urin 5, 10, 20, 30, 100, 200 ccm. Alle Flaschen werden auf 1000 ccm aufgefüllt. Temperatur 20°.

Zeit	Kontrolle	5 ccm	10 ccm	20 ccm	30 ccm	100 ccm	200 ccm
Nachturin mit spezifischem Gewicht 1026.							
12h40 bis 56'	30	60	75	85	98	114	69
1 07'	30	45	53	64	76	92	58
1 17	30	45	54	65	78	96	56
1 26	30	44	52	66	76	95	60
1 36	30	43	52	65	78	97	62
Urin nach zwei Stunden, spezifisches Gewicht 1024.							
12h40 bis 56'	30	33	33	36	39	49	50
1 07'	30	34	34	36	40	53	56
1 17	30	34	33	36	40	52	60
1 26	30	32	34	36	41	53	61
1 36	30	31	34	36	40	54	58
Mittagsurin, spezifisches Gewicht 1023.							
12h40 bis 56'	30	32	32	39	41	44	44
1 07'	30	35	32	42	42	55	54
1 17	30	36	36	45	46	60	60
1 26	30	34	36	42	47	56	60
1 36	30	33	34	45	48	54	58

Von zahlreichen Versuchen mit normalem Urin wird nur diese Tabelle im Auszug wiedergegeben. Sie zeigt das gewöhnliche Verhalten: Zu Beginn meist eine Steigerung der Triebkraft beim Nachturin, während die Tagesurine diese Steigerung vermissen lassen; Nachturin erreicht meist eine höhere Gärkraft als der Tagesurin — das Optimum der Steigerung beim Nachturin ist das Zwei- bis Dreifache, dagegen bleibt der Tagesurin mindestens um 30 Proz. zurück. Eigenartig ist es, daß beim Nachturin die stärkste Konzentration schon hemmend wirkt, während beim Tagesurin sie das Optimum gibt. Zugabe von mehr als 20 Proz. Urin wirkte stets hemmend. Aus diesen Versuchen geht auch hervor, daß es nicht möglich ist, mit einem einzelnen Gärversuch Schlüsse über die Wirkung des Urins zu ziehen, auch wenn gleiches spezifisches Gewicht als Unterlage zum Vergleich herangezogen wird; es ist immer nötig, Reihenversuche anzustellen. Dadurch

ist es möglich, ein Optimum zu gewinnen; auch lassen sich leichter die Fehlerquellen des lebenden Versuchsobjekts aus den Ergebnissen ausschließen.

Bei den verschiedenen Proben stellte es sich heraus, daß bei stark sauren Urinen die Säure etwas abgestumpft werden muß, da sonst die Anfangsresultate zurückbleiben. Einen sicher nachweisbaren Einfluß auf die Urinwirkung nach Genuß von Alkohol oder Traubenzucker habe ich bisher nicht nachweisen können, da die Unterschiede der Urinwirkung auch ohne die obengenannten Stoffe zu sehr auseinanderfallen.

Zur Feststellung der Ursache dieser durch Urin bedingten Steigerung ging ich zunächst ähnlich vor wie *Gigon* und *Odermatt*. Schon früher hatte ich eine ganze Reihe von Substanzen geprüft, die im Urin vorkommen; dabei habe ich aber etwas andere Resultate bekommen, besonders weil beide Verfasser meist nur eine Konzentration prüften. Kurz zusammengefaßt, hatte ich folgende Resultate: Phosphate können bis 25 Proz. steigern, Natron- und Kalisalze von organischen Säuren bis 50 Proz., Ammonsalze bis 150 Proz. Phosphate, Ammonsalze, organische Säuren kommen im Urin vor; waren sie für die Wirkung verantwortlich zu machen, so mußte ein weiterer Zusatz, eventuell nach Verdünnung des Urins, eine Steigerung hervorrufen. Im nächsten Versuch werden zu diesem Zwecke Ammoniumcarbonat und Natriumformiat geprüft; für Formiat kann auch Acetat benutzt werden.

Versuch mit Urin + Ammoniumcarbonat oder + Natriumformiat.

65 g Hefe, 250 g Zucker, 5600 g Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 ist Kontrolle, Flasche 2 erhält 50 ccm Urin, Flasche 3 3 g Ammoniumcarbonat, Flasche 4 3 g Natriumformiat, Flasche 5 50 ccm Urin + 3 g Ammoniumcarbonat, Flasche 6 50 ccm Urin + 3 g Natriumformiat, Flasche 7 3 g Ammoniumcarbonat + 3 g Natriumformiat. Zimmertemperatur.

Zeit	Kontrolle	Urin	Ammoniumcarbonat	Formiat	U + Ammoniumcarbonat	Urin + Formiat	Ammoniumcarb. + Formiat
1h51 bis 58′	30	75	52	52	77	88	45
2 32 „ 39	30	76	57	54	74	86	58
3 06 „ 13	30	76	63	54	74	87	57
4 29 „ 36	30	76	66	50	80	96	57

50 ccm Urin steigern um etwa 150 Proz.; 3 g Ammoniumcarbonat um 100 Proz., 3 g Natriumformiat um 75 Proz. Erhält die Hefe Urin + Ammoncarbonat, so tritt keine höhere Steigerung als die durch Urin allein bedingte auf. Ein Zusatz von Formiat anstatt von Ammoncarbonat bedingt eine höhere Steigerung als Urin allein. Nach Ablauf einiger Zeit ist die Summe der durch beide Faktoren einzeln bedingten Steigerung gleich der Steigerung

die durch die Mischung erreicht wird. Ammoniumcarbonat + Formiat weisen keine weitere Erhöhung auf; das Ergebnis liegt in der Mitte der Resultate, die beide allein hervorbringen.

Ammonsalz ist nicht imstande, die durch Urin bedingte Steigerung zu beeinflussen. Salze organischer Säuren ermöglichen eine weitere Steigerung. Eine Mischung von Ammonsalz + Formiat läßt keine höhere Steigerung aufkommen.

Versuch mit Urin + Harnstoff.

65 g Hefe, 250 g Zucker, 5600 g Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle, Flasche 2 erhält 2 g Harnstoff, Flasche 3 30 ccm Urin, Flasche 4 30 ccm Urin + 2 g Harnstoff, Flasche 5 15 ccm Urin, Flasche 6 15 ccm Urin + 2 g Harnstoff, Flasche 7 1,8 g Harnstoff + 0,2 g Ammoniumcarbonat. Temperatur 20°.

Zeit	Kontrolle	Harnstoff	Urin 30 ccm	Urin 30 ccm + Harnstoff	Urin 15 ccm	Urin 15 ccm + Harnstoff	Harnstoff + Ammoniumcarb.
11h00 bis 30′	45	45	65	52	65	72	51
12 19 „ 25	45	51	78	78	72	71	54
2 25 „ 31	45	52	76	76	71	72	52
3 51 „ 57	45	53	80	80	75	74	53

Harnstoff bewirkte schon in früheren Versuchen eine Steigerung bis 25 Proz. optimal. Es konnte die Möglichkeit vorhanden sein, daß der Harnstoff im Medium des Urins von der Hefe angegriffen werden kann, durch Umwandlung zu Ammoniumcarbonat. Der Versuch ergibt, daß dies nicht der Fall ist. Um eine Wirkung zu ermöglichen, wurde weniger Urin genommen, um sicher eine weitere Steigerung nicht auszuschließen. Es stellt sich heraus, daß Harnstoff keine Wirkung im Urin auf die Hefe äußert. Der letztere Versuch zeigt auch, daß ein geringer Zusatz von Ammoniumcarbonat ohne Bedeutung ist. Die Steigerung des Urins läßt sich nicht auf Harnstoff zurückführen.

Versuch mit Bestrahlung von Ammoniumphosphat, Natriumformiat, Urin.

Von 100 ccm 5proz. Ammoniumphosphat, Natriumformiat und 100 ccm Urin werden je 50 ccm 1 Stunde lang bestrahlt (auf dieselbe Weise wie früher). 65 g Hefe, 250 g Zucker, 6300 g Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle, Flasche 2 erhält 50 ccm Ammoniumphosphat, Flasche 3 erhält 50 ccm bestrahltes Ammoniumphosphat, Flasche 4 erhält 50 ccm Natriumformiat, Flasche 5 erhält 50 ccm bestrahltes Natriumformiat, Flasche 6 erhält 50 ccm Urin, Flasche 7 erhält 50 ccm bestrahlten Urin. Temperatur 22°.

Zeit	Kontrolle	Ammoniumphosphat	Ammoniumphosphat X	Formiat	Formiat X	Urin	Urin X
12h36 bis 43′	45	103	90	73	68	100	74
1 54 „ 2h00	45	93	92	76	73	102	85
2 28 „ 35	45	93	94	72	71	108	85
3 44 „ 51	45	90	94	69	70	110	106

Zur sicheren Kontrolle der verschiedenen Ursachen der Steigerung durch Urin und Salze wurde die Wirkung einer Röntgenbestrahlung untersucht. Es stellte sich heraus, daß Ammoniumphosphat und Natriumformiat durch die Bestrahlung eine geringe Einbuße erleiden, die aber schnell vorübergeht, dagegen wird die Wirkung des Urins durch Bestrahlung bis zu 25 Proz. abgeschwächt. Nur langsam erreicht die letzte Flasche die Höhe der vorangehenden.

Aus diesem Versuch kann wieder geschlossen werden, daß die im Urin wirksame Substanz sich anders verhält als die angewandten Salze.

Versuch mit Urin ohne Ammoniak.

21 Kölbchen mit 100 ccm 2proz. Hefe und 5proz. Zuckerlösung erhalten drei Serien von Urin mit 0,5, 1,0, 2,0, 5,0, 10,0, 20,0 ccm. Der erste Urin ist unbehandelt, der zweite ist mit Soda alkalisch gemacht und dann neutralisiert, der dritte wird mit Soda alkalisch gemacht, im Vakuum bei 40° vom Ammoniak befreit, später wieder neutralisiert. Temperatur 22°.

Zeit	Kontrolle	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm	5,0 ccm	10,0 ccm	20,0 ccm
			Urin.				
12h 10 bis 58′	30	36	37	45	38	28	20
1 42′	30	38	38	50	54	54	40
2 28	30	40	43	56	60	64	56
3 13	30	42	44	51	64	68	64
3 58	30	40	42	50	62	65	64
			Urin, erst mit Soda versetzt, dann neutralisiert.				
12h 10 bis 58′	30	38	41	49	52	40	31
1 42′	30	36	46	50	53	55	36
2 28	30	35	44	50	55	60	49
3 13	30	36	41	48	55	62	56
3 58	30	36	40	47	56	60	62
			Urin nach Vakuumdestillation.				
12h 10 bis 58′	30	35	38	42	47	33	14
1 42′	30	33	36	43	47	46	26
2 28	30	36	38	41	51	52	35
3 13	30	35	36	40	52	54	45
3 58	30	34	37	41	52	50	52

Beim Versuch, das Ammoniak durch Destillation zu entfernen, erwies sich Calcium- oder Magnesiumoxyd als unbrauchbar, da eine Menge anderer Substanzen ausfiel. Mit Soda ließ sich Ammoniak leicht abdestillieren, ohne daß Niederschläge auftraten. Es zeigt sich, daß durch das Versetzen mit Soda und nachfolgendem Neutralisieren eine kleine Verringerung der Steigerung auftritt, die aber vernachlässigt werden kann. Beim dritten

Versuch mit Entfernung des Ammoniaks ergibt sich ein deutliches Zurückbleiben der Steigerung um 30 bis 40 Proz. Es ist damit erwiesen, daß das Ammoniak eine gewisse Steigerung im Urin bedingt.

Wirkung von Urin und Ammoniumacetat bei wechselnder Hefekonzentration.

Es werden drei Serien zu je sieben Flaschen mit einer Hefekonzentration zu 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,25 Proz. in je 100 ccm mit 5 Proz. Zucker gebildet. Serie 2 erhält je 0,2 g Ammoniumacetat, Serie 3 je 5 ccm Urin. Temperatur 20°.

Zeit	5 Proz.	4 Proz.	3 Proz.	2 Proz.	1 Proz.	0,5 Proz.	0,25 Proz.
			Hefe.				
1h00 bis 52′	30	17	12	2	0	0	0
2 15′	30	21	10	2	0	0	0
2 33	30	26	19	6	1	0	0
2 50	30	25	20	12	3	0	0
3 06	30	27	25	17	7	2	0
3 22	30	27	25	18	9	3	0
			Hefe + Ammoniumacetat.				
1h00 bis 52′	30	13	2	0	0	0	0
2 15′	38	28	18	0	0	0	0
2 33	40	32	27	1	0	0	0
2 50	45	38	29	16	6	0	0
3 06	44	41	37	26	11	4	0
3 22	43	43	39	30	13	6	0
			Hefe + Urin.				
1h00 bis 52′	28	16	8	2	0	0	0
2 15′	32	22	20	8	1	0	0
2 33	33	24	21	14	4	0	0
2 50	38	33	30	22	8	2	0
3 06	38	40	36	30	13	8	3
3 22	39	42	42	30	20	9	4

Die Hefe wurde nach kurzer Angärung sofort zum Versuch angesetzt. Alle Flaschen wurden zuvor mit Kohlensäure gesätttigt. Die Kohlensäureentwicklung nimmt entsprechend der Konzentration ab. Bei der kleinsten Konzentration tritt eine Gasentwicklung nicht mehr auf.

Die Hefe, die mit Ammoniumacetat versetzt ist, steigert nach kurzer Zeit um 50 Proz. Diese Steigerung ist unabhängig von der Hefekonzentration. Urin steigert bei den stärkeren Hefekonzentrationen genau wie Ammoniumacetat; bei der Konzentration 1 Proz. steigert er aber doppelt so stark (100 Proz.). Kleinere Hefekonzentrationen bringt er noch zur Angärung, oder bescheunigt die Angärung. Damit ist erwiesen, daß die Steigerung durch Urin anders wirkt als durch Ammonsalze.

Versuch mit Insulin, Urin und Diabetikerurin.

100 g Hefe, 250 g Zucker, 6300 g Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle, Flasche 2 erhält 0,8 ccm Insulin = 16 Einheiten, Flasche 3 erhält 50 ccm Urin vom gesunden, Flasche 4 denselben Urin + 0,8 ccm Insulin, Flasche 5 erhält 50 ccm Diabetikerurin, der nur eine Spur Zucker hat, Flasche 6 erhält 50 ccm desselben Urins + 0,8 ccm Insulin. Temperatur 20°.

Zeit	Kontrolle	Insulin	Urin	Urin + Insulin	Diabetikerurin	Diabetikerurin + Insulin
12h20 bis 26′	45	45	63	46	80	78
13 43 „ 52	45	52	70	52	80	76
1 57 „ 2h02	45	51	78	62	85	72
3 01 „ 08	45	53	92	69	90	78

Insulin steigert bei dieser Konzentration um etwa 15 Proz. Normaler Urin steigert langsam ansteigend von 50 bis 100 Proz. Urin vom Diabetiker steigert zwischen 75 bis 100 Proz. Erhalten beide Urine etwas Insulin, so wird die Wirkung des Urins schwächer, beim normalen Urin stärker als beim Diabetikerurin.

Versuch mit dialysiertem normalen und Diabetikerurin.

Je 50 ccm normalen und Diabetikerurins werden gegen 50 ccm destillierten Wassers dialysiert. 75 g Hefe, 350 g Zucker, 6300 g Wasser werden der zweistündigen Gärung überlassen, dann auf sieben Flaschen verteilt. Flasche 1 wird Kontrolle, Flasche 2 erhält 50 ccm normalen Urin, Flasche 3 erhält den Dialysatrückstand des normalen Urins, Flasche 4 erhält das Dialysat desselben Urins. Flasche 5 erhält 50 ccm Diabetikerurin, Flasche 6 erhält 50 ccm Dialysatrückstand des Diabetikerurins, Flasche 7 erhält das Dialysat desselben Urins. Temperatur 20°.

Zeit	Kontrolle	N Urin	R N Urin	D N Urin	Diabetes	R Diabetes	D Diabetes
3h22 bis 30′	30	93	71	63	70	66	35
4 28 „ 35	30	80	70	62	66	62	38
5 48 „ 55	30	80	68	59	69	64	46
6 38 „ 45	30	78	78	71	80	72	55
7 40 „ 47	30	75	78	75	77	64	52

Der Normalurin steigert zu Beginn etwas mehr als der Diabetikerurin. Dialysat- und Dialysatrückstand des normalen Urins steigern zu Beginn etwas weniger als der Kontrollurin, aber die Summe der erreichten Steigerung ist bedeutend größer als vom nicht dialysierten Urin. Beim Diabetesurin bleibt das Dialysat bedeutend zurück, während der Rückstand nur wenig gegen den Kontrollurin zurückbleibt. Beim normalen Urin erreichen alle

drei Versuche dieselbe Steigerung, während beim Diabetesurin die Kontrolle immer die beiden nächsten Kolonnen übertrifft.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß die steigernde Substanz dialysierbar ist.

Versuch mit Urin und Insulin-Adrenalin.

28 Kölbchen mit 100 ccm 1proz. Hefe und 5 Proz. Zucker werden in vier Serien geteilt. Es sind je vier Kontrollen, die anderen erhalten 0,5 bis 20 ccm Urin. Die zweite Serie bekommt dazu 1,0 ccm Insulin = 20 Einheiten. Die dritte Serie erhält 0,2 ccm Insulin = 4 Einheiten. Die vierte Serie erhält 2,0 ccm 1proz. Suprarenlinlösung. Temperatur 22°.

Zeit	Kontrolle	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm	5,0 ccm	10 ccm	20 ccm
			Urin.				
1h18 bis 2h05′	30	36	36	39	42	48	38
2 54′	30	37	39	39	47	60	49
3 45	30	37	38	39	50	62	53
4 35	30	38	38	39	49	61	56
5 30	30	38	37	38	46	66	69
			Urin + 1,0 ccm Insulin.				
1h18 bis 2h05′	30	33	38	45	52	56	50
2 54′	30	30	22	30	36	38	30
3 45	30	14	10	12	14	15	20
4 35	30	16	15	12	16	16	25
5 30	30	15	14	13	20	22	33
			Urin + 0,2 ccm Insulin.				
1h18 bis 2h05′	30	43	44	51	45	48	35
2 54′	30	43	42	52	53	54	50
3 45	30	44	43	46	58	63	65
4 35	30	45	43	46	59	72	78
5 30	30	43	43	48	58	78	90
			Urin + 2,0 ccm Suprarenin.				
1h18 bis 2h05′	30	33	70	64	64	60	74
2 54′	30	30	45	46	46	48	62
3 45	30	37	42	47	47	51	67
4 35	30	37	43	46	48	58	72
5 30	30	36	42	46	48	65	79

Erst wurde Urin der Hefe zugesetzt, dann Insulin bzw. Suprarenin. *Urin* weist eine Steigerung bis über 100 Proz. auf.

Urin + 1,0 ccm Insulin ergeben zu Beginn eine Steigerung um 90 Proz., diese schlägt bald in Hemmung um, die bis zur Hälfte der Kontrolle geht. Die Ursache ist in einer Agglutination der Hefe zu suchen, die dadurch in ihrer Gärtätigkeit gehemmt wird.

Urin + 0,2 ccm Insulin zeigt dieses Verhalten nicht, da die Menge kleiner ist. Nach einiger Zeit tritt sogar eine kleine Steigerung gegen den Kontrollurin auf. *Urin + Suprarenin* steigert zu Beginn bis zu 140 Proz., diese Steigerung tritt schon bei kleinen Dosen auf. Später läßt die Wirkung rasch nach, und es tritt nur die dem Urin zukommende Steigerung zutage.

Versuch mit frischem, gekochtem und geklärtem Urin.

50 g Hefe, 1500 g Wasser, 150 g Zucker werden der zweistündigen Gärung überlassen. Davon werden je 50 ccm auf 21 Kölbchen verteilt. Drei Kölbchen bleiben normal, die übrigen zu je 6 erhalten von frischem, gekochtem oder durch Blutkohle geklärtem Urin 0,5 ccm, 1,0 ccm, 2,0 ccm, 5,0 ccm, 10,0 ccm, 25 ccm. Die Kölbchen werden dann auf 100 ccm aufgefüllt. Temperatur 20°.

Zeit	Kontrolle	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm	5,0 ccm	10 ccm	25 ccm
			Frischer Urin.				
4h00 bis 5h11'	30	33	31	44	47	33	23
5 58'	30	38	39	46	51	37	30
6 45	30	37	38	44	49	38	32
7 30	30	41	41	53	56	50	45
8 13	30	41	42	52	56	53	51
9 01	30	41	43	52	55	52	56
9 50	30	41	43	53	55	52	64
			Gekochter Urin.				
4h00 bis 5h11'	30	39	50	38	36	30	22
5 58'	30	48	53	46	47	39	28
6 45	30	52	56	48	50	44	33
7 30	30	40	46	40	37	48	43
8 13	30	41	47	43	41	48	45
9 01	30	41	48	50	43	53	52
9 50	30	37	41	45	40	53	53
			Geklärter Urin.				
4h00 bis 5h11'	30	45	43	42	33	31	16
5 58'	30	42	39	40	37	38	23
6 45	30	43	41	44	39	40	27
7 30	30	48	46	48	44	47	43
8 13	30	50	48	47	47	50	48
9 01	30	51	49	50	49	51	60
9 50	30	50	48	48	50	52	65

Wird Urin gekocht oder mit Kohle geklärt, so zeigt sich kein wesentlicher Unterschied in bezug auf den Kontrollurin. Nur bei der höchsten Konzentration des 20 Minuten gekochten Urins ist ein nennenswertes Zurückbleiben zu notieren.

Versuch mit alkoholischem Urinextrakt.

100 ccm Urin werden im Vakuum bei 40° zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit 50 ccm 96proz. Alkohol extrahiert, der verbleibende Rückstand mit 50 ccm 50proz. Alkohol, der weiter verbleibende Rückstand wird mit 35 ccm Wasser aufgenommen. Die beiden alkoholischen Extrakte werden im Vakuum zur Trockene verdampft und ebenfalls mit 35 ccm Wasser aufgenommen. Diese Extrakte werden in steigender Konzentration 100 ccm 2proz. Hefe mit 5 Proz. Zucker zugesetzt. Temperatur 20°.

Zeit	Kontrolle	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm	5,0 ccm	10 ccm	15 ccm
			Extrakt mit Wasser aufgenommen.				
1h25 bis 2h01'	30	28	30	29	28	28	29
2 35'	30	30	31	31	30	29	28
3 08	30	29	30	30	33	35	38
3 40	30	29	30	32	35	36	36
4 10	30	30	32	32	36	36	38
			Extrakt mit 50 Proz. Alkohol.				
1h25 bis 2h01'	30	28	24	23	20	20	14
2 35'	30	30	28	28	26	28	20
3 08	30	35	32	32	29	29	26
3 40	30	35	36	36	34	31	28
4 10	30	38	40	40	40	37	28
			Extrakt mit 96 Proz. Alkohol.				
1h25 bis 2h01'	30	30	30	30	32	30	25
2 35'	30	30	32	30	33	30	37
3 08	30	35	38	37	40	41	45
3 40	30	36	40	44	44	49	55
4 10	30	40	43	44	45	49	55

Es war noch zu untersuchen, ob es möglich ist, die steigernde Substanz zu extrahieren. Durch Eindampfen des Urins mit nachfolgender Extraktion gelingt es nachzuweisen, daß der größte Teil der steigernden Substanz mit 96proz. Alkohol aufzunehmen ist, ein weiterer Teil mit dem größten Teil des Salze geht in 50proz. Alkohol über. Im verbleibenden wasserlöslichen Rest ist nur noch eine geringe Steigerung nachweisbar.

Die Substanz, die die höchste Steigerung zustande bringt, ist alkohollöslich. Eine vorausgehende Ätherextraktion ergibt keine steigernde Substanz.

Vorbehandlung von wenig steigerndem Urin.

Je 20 ccm Urin erhalten 0,1 g von Ammoniak, Schwefelsäure, Alkohol, Bleiacetat, Bariumchlorid. Davon werden je 5 und 10 ccm zu 100 5proz. Hefe mit 5 Proz. Zucker gegeben. Temperatur 24°.

Zeit	Kontrolle	5 ccm Urin	10 ccm Urin	5 ccm Ammoniak	10 ccm Ammoniak	5 ccm SO_4	10 ccm SO_4
3h 20 bis 52'	35	37	40	39	39	39	39
4 20'	35	44	45	55	62	40	45
4 52	35	43	46	56	60	41	46
5 23	35	42	50	55	57	40	52
5 55	35	43	45	50	55	38	49

Zeit	Kontrolle	5 ccm Alkohol	10 ccm Alkohol	5 ccm Acetat	10 ccm Acetat	5 ccm Barium	10 ccm Barium
3h 20 bis 52'	35	44	32	52	50	45	43
4 20'	35	46	33	53	54	55	56
4 52	35	48	50	54	52	48	56
5 23	35	46	49	52	50	47	56
5 55	35	45	47	50	55	48	55

Vor Zusatz zur Hefe wurden die Urine filtriert.

Dieser Versuch wurde ausgeführt, um zu prüfen, ob die Annahme hemmender Substanzen im Urin gerechtfertigt ist. Zu diesem Zwecke wurde Urin, der selbst wenig steigert, durchschnittlich 50 Proz., mit den oben erwähnten Substanzen versetzt.

Zusatz von Ammoniak bewirkt eine Steigerung, die wahrscheinlich auf das Ammoniak selbst zurückzuführen ist. Zusatz von Schwefelsäure bewirkt keinen deutlichen Ausschlag. Zusatz von Alkohol ist ohne Einfluß. Zusatz von Bleiacetat bewirkt eine Steigerung von ähnlicher Höhe wie das Ammoniak. Bariumchloridzusatz ergibt ebenfalls eine ähnliche Steigerung wie das Bleiacetat und Ammoniak.

Es ist wahrscheinlich, daß durch Vorbehandlung des Urins hemmende Substanzen beseitigt werden können.

Wird Urin verschiedenes Eiweiß (Serum, Hühnereiweiß, Casein) zugesetzt und dann ausgefällt, so verändert der Urin seine steigernde Wirkung nicht.

Vorbehandlung des Urins mit Insulin und Calciumhydroxyd.

50 ccm Urin erhalten 2,0 ccm Insulin, nach 1 Stunde wird der entstandene Niederschlag abfiltriert. Dieser Niederschlag wird in 35 ccm etwas alkalischem Wasser gelöst. 50 ccm desselben Urins werden mit Calciumhydroxyd behandelt, vom Niederschlag nach Einleiten von Kohlensäure

abfiltriert. Zum Versuch wird benutzt: 1. der Insulinniederschlag, das Filtrat des Insulinniederschlags, das Filtrat des Calciumniederschlags. Jedes Kölbchen hat 100 ccm 2proz. Hefe mit 5 Proz. Zucker. Temperatur 20°.

Zeit	Kontrolle	0,5 ccm	1,0 ccm	2,0 ccm	5,0 ccm	10 ccm	15 ccm
			Aufgelöster Insulinniederschlag.				
4h22 bis 56′	30	64	92	82	90	90	76
5 29′	30	40	50	54	60	65	56
5 58	30	37	47	53	60	60	53
6 30	30	34	45	54	64	62	54
7 03	30	36	48	56	66	74	62
			Urin-Insulinniederschlag.				
4h22 bis 56′	30	36	36	37	40	44	45
5 29′	30	35	35	38	40	40	40
5 58	30	35	36	37	36	37	40
6 30	30	36	36	32	36	36	42
7 03	30	30	32	30	32	34	40
			Urin-Calciumniederschlag.				
4h22 bis 56′	30	30	32	30	28	20	10
5 29′	30	36	43	40	40	30	24
5 58	30	35	42	41	45	41	32
6 30	30	40	43	46	50	58	45
7 03	30	42	40	42	54	64	60

Wird zu Urin vorsichtig Insulin zugefügt, derart, daß auf 50 ccm Urin ungefähr 2 ccm Insulin kommen, so entsteht ein Niederschlag, der nach zweistündigem Stehen leicht abzufiltrieren ist. Dieser Niederschlag löst sich leicht in Wasser, das mit Natronlauge oder Ammoniak etwas alkalisch gemacht wurde. Dieser Insulin-Urin-Niederschlag löst eine hohe Steigerung der Hefegärung aus, zu Beginn bis zum Dreifachen der Norm, später etwas mehr als das Doppelte. Der vom Niederschlag abfiltrierte Urin weist nur noch eine Steigerung um 35 Proz. auf.

Calciumoxyd bewirkt zu Beginn eine Hemmung, ist sonst ohne Einfluß.

Beim Rückblick ist folgendes zu sagen: Urin kann die Gärung der Hefe steigern, die Steigerung ist abhängig von der Hefekonzentration, bei 1 bis 2proz. Hefelösung kann er optimal um 200 Proz. dauernd steigern, bei stärkerer Konzentration relativ weniger. Nachturin steigert mehr als Tagesurin, eine direkte Abhängigkeit von der Kost konnte ich bisher nicht finden. Die Steigerung des Urins geht nicht dem spezifischen Gewicht parallel. Es kann gezeigt werden, daß die Steigerung durch zwei Komponenten bedingt ist: Ein kleinerer Teil wird durch Ammonsalze bedingt, der größere Teil durch eine Substanz, die alkohollöslich ist und durch Insulin ausgefällt wird. Was für eine Substanz hier vorliegt, konnte ich bisher nicht entscheiden. Als nahe-

liegend kommt das von *Gigon* und *Odermatt* angenommene Vitamin B in Betracht, doch habe ich mit diesem Steigerungen, die dauernd das Doppelte ergaben, bisher nicht bekommen, besonders wenn von der Steigerung der Triebkraft abgesehen wird. Eine ähnliche Wirkung entfaltet der *Euler*sche Biokatalysator *Z*. Eine sichere Unterscheidung des Vitamins B und des Biokatalysators *Z* ist bisher nicht möglich. Zu bemerken ist noch, daß es wahrscheinlich ist, daß im Urin auch eine die Gärung hemmende Substanz vorkommt, ob sie direkt wirkt oder durch Beeinflussung der steigernden Substanzen, ließ sich bisher nicht entscheiden.

Die Steigerung des Urins wird durch drei Faktoren mindestens beeinflußt, durch Salze, durch einen mit Insulin fällbaren Körper, durch hemmende Substanzen. Es ist nicht möglich zu entscheiden, welcher Anteil auf die einzelnen Faktoren kommt; daher ist es auch nicht möglich, vorläufig Schlüsse aus dieser durch Urin bedingten Steigerung zu ziehen.

Literatur.

Bokorny, diese Zeitschr. **81**, 219, 1917. — *Euler* und *Myrbäck*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **141**, 297. — *Gigon* und *Odermatt*, Zeitschr. f. ges. exper. Med. **47**, 294.

Nachtrag zu meiner Arbeit: Zur Kenntnis der Katalase und ihrer Beziehung zu biologischen Oxydationen[1]).

Von

Samuel Hennichs.

(Eingegangen am 2. Juli 1926.)

In der kurzen historischen Einleitung, die ich der oben genannten Arbeit vorangestellt habe, findet sich folgende Stelle:

„Es war bereits geglückt, molekularen Sauerstoff außerhalb des Organismus zu aktivieren und damit Stoffe zu oxydieren, die nicht autooxydabel sind. *Freundlich* und *Masius* oxydierten, mit dem Sauerstoff der Luft und Kohle als Aktivator, Oxalsäure zu Kohlensäure. Dasselbe Resultat erhielten *Freundlich* und *Bjercke* mit Phenylthioharnstoff."

Herr Professor *Warburg* hat mich darauf aufmerksam machen lassen, daß dieses Zitat den Sachverhalt nicht korrekt wiedergibt.

Ich möchte zunächst nicht versäumen hervorzuheben, daß es mir natürlich fern gelegen ist, die Priorität des Herrn *Warburg* bezüglich eines „Kohlemodells" nicht anzuerkennen. Ich war der Meinung, daß dies auch aus meiner Arbeit im übrigen deutlich hervorgeht. Die beanstandete Stelle habe ich Herrn *Warburgs* Arbeit in dieser Zeitschr. **113**, 258, 1921, entnommen, wo er schreibt:

„....Andererseits sind Fälle bekannt, in denen die Adsorption aus Lösungen chemische Reaktionsbeschleunigungen bedingt. So beobachteten *Freundlich*[2]) und *Masius*, daß eine wässerige Oxalsäurelösung in Berührung mit Kohle bei Zimmertemperatur unbeständig ist und eine nähere Verfolgung dieser Beobachtung[3]) ergab, daß die Oxalsäure hier zu Kohlensäure und Wasser verbrennt...."

Die Formulierung dieser Stelle ist tatsächlich so, daß aus ihr allein die irrtümliche Meinung entstehen könnte, die Priorität des Nachweises der Reaktionsprodukte der Oxalsäure käme *Freundlich* zu.

Die erwähnte Oxydation der Oxalsäure kommt übrigens im Tierkörper nicht unmittelbar in Betracht.

---

[1]) Diese Zeitschr. **171**, 314, 1926.

[2]) *H. Freundlich*, Kapillarchemie, S. 163 ff. Leipzig 1909.

[3]) *O. Warburg*, Arch. f. d. ges. Physiol. **155**, 547, 1914.

Auf S. 354 bis 359 meiner Arbeit findet man eine ausführliche Schilderung der wichtigsten *Warburg*schen Beiträge zu diesem Thema und der *Warburg*schen „Theorie des Kohlemodells". Ich schrieb:

S. 354: „*Warburg* gründet, wie früher in der Einleitung hervorgehoben, seine Oxydationstheorie auf Experimente über die Oxydation der Aminosäuren mittels molekularen Sauerstoffs, wobei Kohle und organisches Gewebe die Vermittler sind."

S. 357: „Diese Erfahrungen" (also die Erfahrungen von der oxydationskatalytischen Wirkung der Kohle) „wendet *Warburg* nunmehr auch auf das organische Leben an. ...."

Beiträge zur quantitativen, organischen Mikroanalyse.

Von

Gulbrand Lunde.

(Aus dem mineralogischen Institut der Universität Oslo.)

(Eingegangen am 4. Juli 1926.)

Nachstehend möchte ich über einige Erfahrungen kurz berichten, die ich besonders auf dem Gebiete der Gallensäuren und ihrer Abbauprodukte gemacht habe. Die Versuche wurden in den Jahren 1923/24 im chemischen Institut der Universität Freiburg i. Br. ausgeführt[1]).

I. Die mikroanalytische Elementaranalyse.

Ich arbeite immer nach der bewährten Vorschrift *Pregls*[2]). In manchen Fällen führt aber das gewöhnliche Verfahren nicht zum Ziele.

Die wegen ihrer Schwerverbrennlichkeit berüchtigten Gallensäuren und ihre Abbauprodukte haben mich dann dazu veranlaßt, die in der Makroanalyse geläufige *„feuchte" Verbrennung* auch auf die Mikroanalyse zu übertragen.

Um größere Umänderungen an der Apparatur zu vermeiden, damit man sie zu jeder Zeit wieder für eine „trockene" Verbrennung verwenden kann, bringt man einfach zwischen U-Rohr und Verbrennungsrohr statt der Kapillare[3]) einen zweiten Blasenzähler an, der auf beiden Seiten eine nicht allzu enge Kapillare angeschmolzen hat. Die Kapillare wird direkt in den Gummistopfen des Verbrennungsrohres eingesteckt; die Verbindung mit dem U-Rohr erfolgt durch einen 2 cm langen Druckschlauch, Glas an Glas.

Die Menge des mitgerissenen Wassers bei einer Verbrennung läßt sich einfach folgendermaßen errechnen: Wir nehmen an, daß die Verbrennung mit Sauerstoff 10 Minuten dauert, die Strömungsgeschwindigkeit des Gases sei wie üblich auf 4 ccm in der Minute ein-

---

[1]) Vgl. *G. Lunde*, Studien in der Gallensäurereihe, Arch. f. Math. og Naturvidenskab **39**, Nr. 3, S. 1 bis 77 (Oslo 1925).

[2]) *F. Pregl*, Die quantitative organische Mikroanalyse, Berlin 1923.

[3]) Vgl. *Pregl*, l. c., S. 25.

gestellt, so ergibt sich ein Gasvolumen von 40 ccm. Beim Durchleiten der Luft passieren noch 100 ccm Gas den Blasenzähler, also im ganzen 140 ccm. Vorausgesetzt, daß dieses Volumen mit Wasserdampf bei einer Temperatur von 18° gesättigt wird, so erhält man eine Wassermenge von 2,16 mg. Diese an und für sich nicht beträchtliche Wassermenge ließe sich wohl im gewöhnlichen Chlorcalciumrohr absorbieren, macht sich aber bei sonst wasserstoffreichen Substanzen unangenehm bemerkbar, indem sie häufig Verstopfungen veranlaßt, die dadurch zustande kommen, daß sich ein Wassertropfen in der kapillaren Verjüngung des Absorptionsrohres festsetzt und den weiteren Durchtritt verhindert. Dabei entsteht am Schnabel des Verbrennungsrohres ein Überdruck und an der Verbindung der beiden Absorptionsapparate ein Unterdruck, was zu Verlusten an Kohlensäure bzw. einem Eintreten feuchter atmosphärischer Luft im Natronkalkrohr den Anlaß geben kann.

Auch bei der gewöhnlichen, „trockenen" Verbrennung ist es mitunter vorgekommen, daß ein Wassertropfen in der Verjüngung des Chlorcalciumrohres den Durchtritt der Verbrennungsgase versperrt, besonders bei stark wasserstoffhaltigen Körpern. Wird die Unterbrechung des Gasstromes durch eine Stockung des Blasenzählers und ein Nachlassen des Abtropfens an der *Mariotte*schen Flasche rechtzeitig erkannt, so kann man durch Berühren der verjüngten Stelle mit einem heißen Kupferdraht den Wassertropfen momentan zum Verdampfen bringen, und die Verbrennung ist meistens gerettet.

Im allgemeinen sind die Kapillaren in solchen Fällen etwas zu eng; sie lassen sich leicht durch Aufblasen ein wenig erweitern. Der Widerstand der gefüllten Absorptionsapparate sollte höchstens 5 cm Wassersäule betragen, was leicht an der *Mariotte*schen Flasche beim Einstellen der richtigen Blasenzahl vor der Verbrennung gemessen werden kann. Ist der Widerstand größer, so ist eine oder mehrere Kapillaren zu eng und müssen aufgeblasen werden.

Um bei der „feuchten" Verbrennung diesen Übelstand vollständig zu beseitigen, verwende ich mit Erfolg ein Chlorcalciumrohr ohne Kapillaren, da es sich ja hier nicht um die quantitative Ermittlung des absorbierten Wassers handelt. Auch hat es den zweiten Vorteil, daß das für die gewöhnlichen Verbrennungen gebrauchte Chlorcalciumrohr nicht durch die großen Wassermengen zu rasch erschöpft wird.

In einigen Fällen führt aber die „feuchte" Verbrennung auch nicht zum Ziele. Ich habe dann nach einer persönlichen Angabe, die ich Dr. *Fritz Pregl* verdanke, statt der Silberwolle, die die Rohrfüllung abschließt, eine 2 cm lange *Platindrahtnetzrolle* eingeschoben[1]). Es werden dann zwei verschiedene Wege der Zersetzung eingeleitet,

[1]) *G. Lunde*, l. c., S. 60.

erstens der über glühendem Platin als Kontaktsubstanz, zweitens der über Kupferoxyd-Bleichromat. Die Verbrennung mit der Platinrolle verläuft so glatt, daß ich in neuerer Zeit vorgezogen habe, stets mit dieser Rohrfüllung zu arbeiten, soweit es sich nicht um halogenhaltige Körper handelt.

Zum Schluß sei noch bemerkt, daß man den Reagenzien gegenüber nicht mißtrauisch genug sein kann. Ich trockene jetzt immer das Chlorcalcium 6 Stunden bei 12 mm auf einem siedenden Wasserbad. Eine höhere Temperatur ist nicht anzuraten, da das Chlorcalcium sonst zu sehr stäubt. Auch der Natronkalk ist manchmal unrein. So habe ich einen Fall gehabt, wo erst richtige Analysen erhalten wurden, nachdem vor der Verbrennung 500 ccm Luft statt 100 ccm durchgeleitet waren. Die früheren Analysen hatten alle einen zu niedrigen Kohlenstoffwert geliefert. Der Natronkalk enthielt also einen flüchtigen Körper, der erst durch 500 ccm Luft vollständig vertrieben werden konnte. Hofrat *Pregl* hat mir seinerzeit über einen ähnlichen in seinem Institut vorgekommenen Fall berichtet.

Zum Schmieren der Glashähne verwende ich nach einem Vorschlag von Dr. *Hermsen* die für das Präparieren der Gummischläuche verwandte Vaseline, die keine Dämpfe mehr abgibt. Auch ist sirupöse Phosphorsäure vorteilhaft, hat aber den Nachteil, daß sie öfters erneuert werden muß.

Die schaumfreie Kalilauge für die Mikrostickstoffbestimmung bereite ich nach den Angaben *Pregls*[1]), nur mit dem Unterschied, daß ich, nachdem das fein gepulverte Bariumhydroxyd zugesetzt ist, 2 Stunden auf dem Wasserbad erwärme. Es wurde nämlich wiederholt beobachtet, daß nur beim Umschütteln in der Kälte die Lauge nicht immer tadellos schaumfrei wird. Man verwende für die Bereitung der Lauge stets dasselbe Gefäß aus Jenaer Glas. Beim Stehen in verschlossenen Glasgefäßen wird die Lauge nach einigen Monaten wieder schäumend; sie kann durch erneutes Aufkochen mit Baryt wieder schaumfrei gemacht werden.

Das Schäumen dürfte nach diesem Befund durch gelöste Silikate verursacht werden.

II. Die mikroanalytische Carboxylbestimmung.

Für die Titrationen verwende ich n/100 carbonatfreie NaOH und n/100 HCl. Die Büretten hatten einen Fassungsraum von 10 ccm, die in $^1/_{20}$ ccm geteilt waren; die Striche waren nach der Vorschrift der Normaleichungskommission über die Hälfte des Rohrumfanges

[1]) *Pregl*, l. c., S. 104.

gezogen. Die Bürette war ferner oberhalb der Einteilung zweimal rechtwinklig gebogen und endigte in einem mit der Bürette parallelen, in der Vorratsflasche eingeschliffenen Steigrohr. Oberhalb der Einteilung war auch ein kleines, durch ein Natronkalkrohr verschlossenes Ansatzrohr angebracht, durch welches man bei leichtem Ansaugen die Flüssigkeit von der Vorratsflasche in die Bürette bringt. Sie sollte beim Nichtgebrauch stets bis ganz hinauf gefüllt sein. Im Schliff der Vorratsflasche ist ferner noch ein gleichfalls mit einem Natronkalkrohr versehenes Ansatzrohr zum Druckausgleich angebracht.

Bei Verwendung eines Schraubenquetschhahnes ist darauf zu achten, daß die Schraube bei jeder Ablesung gleich weit zugeschraubt sein muß, da sich sonst merkbare Differenzen ergeben. Man bringt zweckmäßig auf der Schraube eine Marke an.

Die carbonatfreie Lauge wird ähnlich wie die schaumfreie Kalilauge für die Stickstoffbestimmung bereitet, indem eine 50proz. Lösung von Natriumhydroxyd pro analysi mit feinst gepulvertem Ätzbaryt auf dem Wasserbad erwärmt wird. Bei Einhaltung dieser Konzentration bleibt die Alkalilösung vollständig barytfrei.

Die Einstellung der bereiteten n/100 NaOH und HCl geschieht nun folgendermaßen: Erst bestimmt man durch mehrere Versuche die Stärke der Säure, verglichen mit der Natronlauge. Dann wägt man in einem Wägeröhrchen, wie es bei der Stickstoffbestimmung verwendet wird, 2 bis 4 mg wiederholt umkristallisierte, luftgetrocknete Oxalsäure ab, gibt sie in einen 25 ccm fassenden, sorgfältig ausgedämpften Erlenmeyerkolben und läßt aus der Bürette n/100 Lauge im Überschuß zufließen. Der Kolben wird auf einem Wasserbad schwach erwärmt. Nach völliger Lösung gibt man einen stets mit derselben Pipette aus der Vorratsflasche herausgenommenen Tropfen Phenolphthaleinlösung hinzu, kühlt durch kurzes Einstellen in kaltem Wasser ab und titriert mit der Salzsäure auf farblos zurück. Der Umschlag ist bei dieser relativ hohen Konzentration außerordentlich scharf.

Die angewandte Phenolphthaleinlösung wird durch Lösen von 1 g reinen Phenolphthaleins in 100 ccm absoluten Alkohols hergestellt. Gewöhnlicher 96proz. Alkohol reagiert stets sauer und kann zu Fehlern Anlaß geben.

Bei der Ausführung der Carboxylbestimmung wäge ich etwa 4 mg der zu untersuchenden Säure in einem Platinschiffchen ab und trockene im Mikroexsikkator. Das Schiffchen wird dann in einen ausgedämpften Jenaer Erlenmeyerkolben von 25 ccm eingeschoben, man läßt Lauge im Überschuß aus der Bürette zulaufen, erwärmt auf dem Wasserbad bis zur völligen Lösung und titriert nach dem Erkalten mit Salzsäure

zurück. Dieses Verfahren gibt sehr zufriedenstellende Resultate[1]); es ist natürlich nur bei wasser- bzw. alkalilöslichen Säuren anwendbar. Ist die Säure alkaliunlöslich, muß sie zuerst in Alkohol aufgelöst werden. Man nimmt aus oben angegebenen Gründen am besten absoluten Alkohol, kann aber auch gewöhnlichen 96proz. verwenden, muß aber dann zuerst zur Hälfte mit Wasser verdünnen und sorgfältig mit n/100 NaOH neutralisieren. Das Verdünnen ist deshalb notwendig, weil der Umschlag sonst nicht mehr scharf ist.

III. Die mikroanalytische Methoxylbestimmung (Mikro-Zeisel).

Die bewährte Vorschrift von *Pregl*[2]) wird peinlichst genau befolgt. Zu Anfang hatte ich immer Schwierigkeiten mit der Herstellung des Filterröhrchens, sehr oft gelang es nicht, Gewichtskonstanz nach dem Durchwaschen der Filtermasse zu erzielen, was darauf zurückzuführen war, daß kleine Asbestteilchen mit dem Waschwasser mitgerissen wurden. Jetzt verwende ich mit Erfolg ein von *Schott & Gen.*, Jena, hergestelltes Mikrofilterrohr (12 G $^3/_5$—7), das sich in jeder Beziehung bewährt hat. Es wäre zweckmäßig, wenn das Ausflußrohr 2 cm länger gemacht wird, damit es leichter auf die Aufhängevorrichtung der Mikrowage gebracht werden kann, was man mit dem kurzen Rohre nur durch sehr vorsichtige Handhabung erreicht. Auch ist Gewichtskonstanz bei der Abwägung schneller erreicht als mit dem Asbestfilterröhrchen; das Jenaer Filterrohr hat nach höchstens 15 Minuten die Temperatur der Umgebung angenommen und kann gewogen werden. *Schott & Gen.*, Jena, haben auch Filterröhrchen von derselben Form wie die *Pregl*schen hergestellt; ich sehe aber nicht ein, warum man diese Form beibehalten soll, da sie ja nur der zweckmäßigen Anbringung des Asbestfilters dient und sonst keinerlei Vorteile gegenüber irgend einer anderen Form aufweist.

Bei der Anwendung des Jenaer Filterrohres arbeite ich beim Absaugen des Halogensilberniederschlags mit dem vollen Vakuum der Wasserstrahlpumpe, damit eine genügende Geschwindigkeit der Flüssigkeit im Heberrohr erreicht wird. Auch muß darauf geachtet werden, daß die Filterschicht niemals trocken bleibt, da die Saugwirkung im Heberrohr dann sofort erheblich nachläßt.

IV. Die quantitative Verfolgung der Blancschen Reaktion.

Blanc[3]) hat an den gesättigten aliphatischen 1,6- und 1,7-Dicarbonsäuren die Erfahrung gemacht, daß sie beim Erhitzen mit Essigsäure-

[1]) *G. Lunde*, l. c., S. 48, 60.
[2]) *Pregl*, l. c., S. 183.
[3]) C. r. **144**, 1356.

anhydrid unter Abspaltung von CO_2 und H_2O die entsprechenden Ringketone ergeben. Dagegen liefern 1,4- und 1,5-Dicarbonsäuren bei der gleichen Behandlung unter Wasserabspaltung innere Anhydride.

Windaus und Mitarbeiter[1]) haben diese Methode auf Dicarbonsäuren der Cholesteringruppe übertragen, um durch sie einen Einblick in die Zahl der Kohlenstoffatome in den aufgespaltenen Ringen zu gewinnen. *Wieland* und *Kulenkampff*[2]) haben die Reaktion vereinfacht, indem sie das Essigsäureanhydrid durch ein Erhitzen im Hochvakuum ersetzt haben. Zur *quantitativen* Ermittlung der abgespaltenen Kohlensäure und des Wassers wird die zu untersuchende Säure im trockenen, kohlensäurefreien Stickstoffstrom erhitzt, unter Vorschaltung eines Chlorcalciumapparats und eines mit Barytlauge beschickten Peligotrohres.

Es erschien nun sehr geboten, diese Methode der thermischen Zersetzung auf die Mikroanalyse zu übertragen, denn eine Makrobestimmung erfordert immerhin die Einsetzung von 0,3 bis 0,5 g Substanz, um zu einigermaßen brauchbaren Resultaten zu gelangen. Am einfachsten glaube ich diese Aufgabe durch Anlehnung an die Mikroelementaranalyse gelöst zu haben. Zur Absorption verwende ich die gewöhnlichen *Pregl*schen Absorptionsröhren mit Schliff. Als Reaktionsgefäß dient ein kleiner Schwertkolben, dessen Hals und Schwert einen äußeren Durchmesser von 10 mm hat. Der Kolben ist unten ganz wenig kugelig aufgeblasen, so daß er einen Fassungsraum von $^3/_4$ bis 1 ccm erhält. Der Kolbenhals hat eine Länge von 50 mm. Das Schwert ist etwa 5 mm oberhalb der Kugel angesetzt; es endet in einem kurzen, 1 bis 2 cm langen, geraden Stück senkrecht zum Kolbenhals. Als Trockenvorrichtung dient ein kleines U-Rohr mit angeschmolzenem Blasenzähler, wie es bei der Elementaranalyse gebraucht wird. Das U-Rohr füllt man zur Hälfte mit Natronkalk und zur Hälfte mit Chlorcalcium, den Blasenzähler mit 50proz. Kalilauge. Das U-Rohr verbindet man Glas an Glas mit einem wie ein Z gebogenen, engen Glasrohr, das seinerseits durch einen Gummistopfen in den Kolbenhals hineingeführt wird. Man läßt das Glasrohr nur ganz wenig aus dem Gummistopfen herausragen, um das Entstehen eines toten Raumes im Kolbenhals zu vermeiden. Der im kugelförmigen Teil des Gefäßes unvermeidliche tote Raum kann vernachlässigt werden, denn die sich hier angesammelte Kohlensäure wird, wie der Versuch gezeigt hat, durch den später durchgeschickten Luftstrom vollständig verjagt.

Um genau definierte Verhältnisse einhalten zu können, arbeite ich mit den Druckreglern von *Pregl* unter Anwendung der *Mariotte*schen Flasche zum Druckausgleich. Diese Vorsichtsmaßnahme ist vielleicht

[1]) B. 45, 1316; 52, 112.
[2]) H. 108, 295.

nicht unbedingt erforderlich, gestattet aber ein angenehmeres Arbeiten, indem man sich zu jeder Zeit über die Menge und Strömungsgeschwindigkeit des durchgeschickten Gases orientieren kann. Die Druckregler sind durch gealterte Gummischläuche mit einem Dreiweghahn verbunden, der die Zuleitung zum U-Rohr bildet.

Der Versuch gestaltet sich nun folgendermaßen: Nachdem etwa 20 bis 30 mg der zu untersuchenden Säure in einem Platinschiffchen im Mikroexsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde, führt man das Schiffchen in den vorher sorgfältig abgewischten und auf der Mikrowage gewogenen Schwertkolben ein. Der Kolben wird sofort mit dem gebogenen Zuleitungsrohr verbunden und 20 Minuten trockener Stickstoff mit einer Geschwindigkeit von etwa 4 ccm in der Minute durchgeleitet. Die Geschwindigkeit läßt sich an dem vorher geeichten Blasenzähler ermitteln; durch Verschieben der Druckregler kann sie reguliert werden. Während des Durchleitens werden die Absorptionsröhren abgewogen. Die Verbindung mit dem Schwerte habe ich durch einen über den Schnabel des Chlorcalciumrohres geschobenen Gummistopfen bewirkt, der in das Schwert hineinpaßt. Obwohl diese Methode in den meisten Fällen genügen dürfte, ist sie jedoch nicht ganz einwandfrei. Viel zuverlässiger würde man arbeiten, wenn man das Schwert durch Ausziehen oder noch besser durch Ansetzen mit einem Schnabel versehen würde, der denselben äußeren Durchmesser wie das Verbindungsstück des Chlorcalciumrohres hat, und sich dann mit einem kleinen Stück präparierten Druckschlauch Glas an Glas mit dem Chlorcalciumrohr verbinden ließe. Das Natronkalkrohr verbindet man mit der *Mariotte*schen Flasche und stellt durch Senken des Hebels auf dieselbe Blasenzahl ein, wie vor der Ausschaltung der Röhren. Die Saugwirkung ist dann genau gleich dem Widerstand der Absorptionsröhren.

Jetzt taucht man den Schwertkolben in ein Metallbad ein und erhitzt rasch, während ständig Stickstoff (4 ccm pro Minute) durchgeleitet wird, bis zum Schmelzen der Substanz, geht dann mit der Temperatur einige Grade herunter, damit die meistens stürmisch einsetzende Reaktion etwas mäßiger wird; auch hält man wegen der Gefahr des Verkohlens die Temperatur möglichst niedrig. Die Temperatur wird mit einem ins Bad hineingehängten Thermometer gemessen. Nachdem die Reaktion beendet ist, was nach ½ bis ¾ Stunden der Fall sein sollte, entfernt man das Metallbad und läßt noch im Stickstoffstrom vollständig erkalten. Dann wird auf Luft umgeschaltet und das Reaktionsgefäß mit 100 ccm Luft ausgespült, wozu bei der oben angegebenen Geschwindigkeit 25 Minuten erforderlich sind. Während des Luftdurchleitens kühlt man die beiden Absorptionsröhren mit einem feuchten Lappen. Ich habe es vorgezogen, bei dieser

Bestimmung auch das Chlorcalciumrohr zu kühlen, da die Fehler, die sonst entstehen können, hier viel mehr ins Gewicht fallen als bei der Elementaranalyse, wo man den Wasserstoffgehalt bestimmen will, der nur ein Neuntel des gefundenen Gewichtes beträgt.

Um das sich im äußeren Teil des Schwertes kondensierende Wasser überzutreiben, wickelt man um diesen Teil einen dünnen Kupferdraht als eine Spirale und taucht das Ende des Drahtes ins Metallbad ein.

Nach dem Durchleiten der Luft wird in der üblichen Weise abgewogen. Bei den Reaktionen, um die es sich hier handelt, spielen sich manchmal zu einem geringen Prozentsatz Nebenreaktionen ab, bei denen sich flüchtige Körper nicht saurer Natur bilden. Es ist deshalb geboten, nach der Abwägung nochmals 100 ccm trockene Luft durch die Absorptionsapparate zu leiten, wobei sie keine Abnahme erfahren dürfen. Ist das doch der Fall, so ist in den Röhren ein flüchtiger Körper vorhanden, der durch die ersten 100 ccm Luft nicht vollständig vertrieben wurde. Man wiederholt das Durchleiten der Luft, bis Gewichtskonstanz erreicht ist. Durch Zurückwägen des Schwertkolbens findet man unter Berücksichtigung des Platinschiffes die Abnahme des Gewichtes der Substanz, die von der Summe der Zunahmen der Absorptionsröhren nicht erheblich differieren darf. Es ist dies eine angenehme Kontrolle des gelungenen Versuches[1]).

[1]) Vgl. *G. Lunde*, l. c., S. 51, 61.

Verhalten, insbesondere Ionenaktivierung von Pflanzenenzymen in Abhängigkeit von der Ernährung.

I. Mitteilung.

Über die Amylase kalihungriger Zuckerrüben.

Von

G. Doby und **R. P. Hibbard.**

[Mitteilung aus dem Agrochemischen Institut der Gemeinwirtschaftlichen Fakultät der Universität zu Budapest (Ungarn) und aus dem Botany Department des Michigan State College, East-Lansing, Mich. U. S. A.]

(Eingegangen am 5. Juli 1926.)

Einleitung.

Die Rolle der Salze bzw. ihrer Ionen im lebenden Organismus ist noch vielfach unklar, obzwar das Studium von Ionen auf Kolloide, sowie der Ionenaktivierung von Enzymen in den letzten Jahren viel zur Klärung dieser Frage beitrug. Dieselbe ist besonders in bezug auf die Landwirtschaft von praktischem Interesse.

Aus diesem Grunde stellten vor einigen Jahren *Hibbard* und *Gruzit* eine Reihe vorläufig noch unveröffentlichter Versuche an, in denen sie das Trockengewicht von verschieden ernährten Gurken- und Maispflanzen bestimmten. Die in Sandkulturen aufgezogenen Pflanzen wurden teilweise vollständig, teilweise in Abwesenheit je eines Ions ernährt und es zeigte sich, daß, obwohl die Gesamttrockensubstanz in unvollständig ernährten Pflanzen freilich geringer war, als in den vollständig ernährten, das Trockengewicht der Blätter sich gerade entgegengesetzt verhielt, besonders bei Mangel an Kalium bzw. Calcium, oder Phosphor[1]). Dies weist darauf hin, daß diese Elemente nicht nur bei der Photosynthese, sondern auch im Weiterführen der Assimilate eine unentbehrliche Rolle spielen, da dies Abführen bei Abwesenheit besonders der erwähnten Elemente gehindert ist und sich die Assimilate daher in den Blättern ansammeln, wodurch letztere in hungernden Pflanzen ein höheres Trockengewicht erlangen. Gleichzeitig tauchte der Gedanke auf, daß die kohlehydratspaltenden Enzyme in hungernden Pflanzen irgendwie abnorm funktionieren.

Andererseits zeigte eine Reihe von *G. Doby* veröffentlichten Untersuchungen[2]), daß ein Anhäufen von Salzen in blattrollkranken Kartoffeln Hand in Hand mit einer größeren Aktivität von Enzymen geht.

---

[1]) Siehe jedoch *Asada*, diese Zeitschr. **140**, 326, 1923.

[2]) *G. Doby*, Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. **21**, 10 und 321, 1911; **22**, 204 und 401, 1912; diese Zeitschr. **67**, 166, 1924 und (mit *J. Bodnar*) ebendaselbst **68**, 192, 1915.

Die Ergebnisse dieser in ganz verschiedenen Richtungen angestellten Versuche ließen es nun erwünscht erscheinen, zu untersuchen, *welchen Einfluß eine verschiedene Ionenernährung auf das Verhalten der Enzyme ausübt.*

Aus diesem Grunde untersuchten wir zwei kohlehydratspaltende Enzyme von vollständig ernährten bzw. kalihungrigen Zuckerrüben. Vorliegende Mitteilung soll über die *Amylase* berichten.

Die Amylase der Zuckerrübe war schon öfter Gegenstand von Untersuchungen. *Brasse*[1]) und später *Gonnermann*[2]) waren die ersten, die amylolytische Enzyme in Zuckerrübenblättern nachwiesen. Neuerdings lenkte *Palladin* und *Popoff*[3]) die Aufmerksamkeit auf die durch Autolyse verstärkbare Wirkung der Amylase in Pflanzen, so auch in Zuckerrübenblättern. Über Salzaktivierung der Amylase im allgemeinen liegt eine eingehende Literatur vor[4]), aus der wir bloß erwähnen möchten, daß Anionen im allgemeinen stärker aktivieren als Kationen; allerdings widersprechen sich einander diese Angaben sehr oft. Von denselben möchten wir bloß einige hervorheben, die mit unseren Versuchen in näherem Zusammenhang stehen. So zeigen Zooamylasen im allgemeinen eine starke Aktivierbarkeit durch Haloidionen[5]), besonders durch Chloride, während dies bei Phytoamylasen meistens nicht der Fall ist. Dagegen scheint das Fluoridion eine gerade entgegengesetzte Wirkung zu haben[6]). In bezug auf das Wesen der Salzaktivierung sind besonders die Versuche *Neuschloss*[7]) von großem Interesse, der die Aktivierung mit der Oberflächenaktivität in unmittelbaren Zusammenhang brachte.

Eine ganz neue Auffassung der Amylase scheint sich aus *Biedermanns* Versuchen zu entwickeln[8]), nach denen in der sogenannten Salzhydrolyse die Salze allein schon Stärke zu hydrolysieren vermögen, ihre Wirkung aber durch Amylasen verstärkt wird. Auch *Haehn* und *Schweigert*[9]) gelang es, die Kartoffelamylase durch Entziehen der Salze völlig wirkungslos zu machen.

In bezug auf die Rolle von Salzen in der Pflanze sind besonders *Iljins* Versuche von Interesse[10]), in denen er die Bildung und das Verschwinden der Stärke in den Schließzellen der Pflanzen durch Salze regulieren konnte. Diese Erscheinungen, sowie der dabei besonders auffallende *Ionenantagonismus* erhalten eine weitere Erklärung durch *Embdens* und seiner Mit-

---

[1]) *Brasse*, C. r. **99**, 878, 1884.

[2]) *Gonnermann*, Zeitschr. d. Vereins f. Rübenz.-Ind. **48**, 667, 1898.

[3]) *Palladin* und *Popoff*, diese Zeitschr. **128**, 487, 1921.

[4]) Siehe in Oppenheimers Handb. „Die Fermente".

[5]) *Wohlgemuth*, diese Zeitschr. **9**, 1, 1908; *Michaelis* und *Pechstein*, ebendaselbst **59**, 77, 1914; *Hahn* und *Harpuder*, Zeitschr. f. Biol. **71**, 287, 1920; *Berczeller* und *Freund*, diese Zeitschr. **139**, 476, 1923; *Holmbergh*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **134**, 68, 1924; diese Zeitschr. **145**, 244, 1923/24.

[6]) *Doby*, diese Zeitschr. **67**, 166, 1914; *Ernström*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **119**, 190, 1922; *Koga*, diese Zeitschr. **142**, 159, 1923; *Haehn* und *Schweigert*, diese Zeitschr. **143**, 566, 1923.

[7]) *Neuschloss*, Pflügers Arch. **181**, 45, 1920.

[8]) *Biedermann*, diese Zeitschr. **135**, 282, 1922; **137**, 35, 1923; 149, 309, 1924.

[9]) *Haehn* und *Schweigert*, l. c.

[10]) *Iljin*, diese Zeitschr. **132**, 494, 511, 526, 1922.

arbeiter[1]) schöne Versuche, in denen die Wirkung verschiedener Ionen auf entgegengesetzte Enzymreaktionen augenscheinlich wird. Schon *Iljin* brachte diese Erscheinungen in an Salzpflanzen ausgeführten Versuchen unmittelbar mit dem Problem der Ernährung in Zusammenhang. *Iljin* war also schon ganz nahe an dem Problem, welches wir — auf ganz anderem Wege dahingelangt — in Angriff nahmen. Dieses Problem, die Wirkung der Ionennahrung auf die Entwicklung der Enzyme und ihre Aktivierbarkeit, ist schon in einem Versuche *Sjöbergs* gestreift[2]), der in seinen eingehenden Untersuchungen über die Amylase lebender Pflanzen auch einen Versuch mit Weglassung des Magnesiums machte, jedoch keinen Unterschied in der Konzentration der Amylase feststellen konnte. *Sjöberg* beruft sich auf Versuche *v. Eulers* und *af Ugglas*'[3]), in denen dieselben in mit Phosphat ernährtem Malze eine höhere Amylasenkonzentration nachwiesen.

Für unsere Versuche wurden Zuckerrüben, nachdem sie etwa einen Monat auf dem Felde wuchsen, in Sandkulturen ohne Kali gezogen; dabei hatten wir auch Kontrollpflanzen mit voller Ernährung. Es wurde die Amylase des Preßsaftes der Blätter untersucht, nachdem einige vorläufige Versuche zeigten, daß in den Wurzeln nur Spuren einer Amylasenwirkung nachzuweisen waren.

Wirkung einiger Ionen auf die Amylase.

Die Versuche wurden mit Natrium-, Kaliumnitrat und Kaliumchlorid angestellt, und zwar vorerst an Blättern von in Gartenerde stehenden, aber bloß mit destilliertem Wasser bewässerten, also gewissermaßen hungernden Pflanzen. Die stärkste Wirkung hatte Kaliumchlorid in normaler Konzentration.

Tabelle I. Aktivierung der Amylase durch Salze in n Konzentration.

Salze	Aktivitätsproz. D	p_H	
		Anfang	Ende
0	100	6,7	6,5
n $NaNO_3$	200	6,7	6,7
n KNO_3	200	6,7	6,7
n KCl	6580	6,7	6,7

Tabelle II. Aktivierung der Amylase bei verschiedener Salzkonzentration.

Konzentration des Salzes	Proz. D bei Anwesenheit von		
	$NaNO_3$	KNO_3	KCl
0	100	100	100
n/10000	100	—	150
n/100	168	160	590
n/10	—	160	—
n	100	2670	3920

[1]) *Embden* und Mitarbeiter, Zeitschr. f. physiol. Chem. **134**, **141** usw.
[2]) *Sjöberg*, diese Zeitschr. **133**, 218, 1922, und zwar S. 259.
[3]) Daselbst S. 255.

Am stärksten wirkt also Chlorid; aber nicht nur die Anionen, sondern auch die Kationen aktivieren, was aus dem Vergleich von Na- und KNO_3 erhellt. Außer dem Chlorid aktiviert auch Fluorid:

NaF	0	0,06	0,09	0,3 Proz.
D	100	150	120	120 „

In dieser Hinsicht verhält sich also die Amylase der Zuckerrübe ebenso verschieden von der des Malzes als der Kartoffel, da diese beiden von Chlorid gar nicht, letztere aber von Fluorid stark aktiviert werden[1]). Die stark aktivierende Wirkung des Chlorids ist möglicherweise ein Grund des Kochsalzbedürfnisses der Zuckerrübe, welches *Stoklasa* hervorhebt[2]).

Abhängigkeit der Amylasenkonzentration von der Ionennahrung der Pflanzen.

Die Konzentration der Amylase in den kalihungrigen und Kontrollpflanzen wurde in zwei Zeitpunkten der Entwicklung der Pflanzen, und zwar mit einem Intervall von 2 Monaten bestimmt. Wie aus Tabelle III ersichtlich, *sind die Konzentrationen der Amylase in beiden Zeitpunkten bei voller Ernährung geringer als bei einem Mangel an Kali* (in den frischen Säften). Dabei *sinkt die Konzentration mit der Entwicklung der Pflanze*, und zwar bei voller Ernährung wieder stärker, wie dies aus den Zahlen der letzten Kolonne ersichtlich ist.

Tabelle III.

Konzentration der Amylase bei verschiedener Ionenernährung.

Art der Ernährung	Konzentration der Amylase $D_{24}^{38^0}$				
	am 10. Februar	am 8. April			$\frac{D \text{ April}}{D \text{ Februar}}$
			p_H		
			Beginn	Ende	
Voll	18	5	6,8	6,9	0,28
Ohne Kali	33	25	6,6	6,6	0,75

Diese auffallenden Ergebnisse zeigen also *eine ausgeprägte Abhängigkeit der Konzentration des Enzyms von der Art der Ernährung*, daher ganz verschieden von den Angaben *Sjöbergs*[3]); allerdings beziehen sich dieselben auf Magnesium unter anderen Bedingungen und bei anderen Pflanzen.

[1]) *Doby*, l. c. und *Haehn* und *Schweigert*, l. c.

[2]) *Stoklasa* und *Matousek*, „Beiträge zur Kenntnis der Ernährung der Zuckerrübe" 1916.

[3]) *Sjöberg*, l. c. S. 259.

Die stärkere Amylasenkonzentration in hungernden Pflanzen erinnert an die alte Feststellung *Brown* und *Morris*'[1]), die in in Dunkelheit gehaltenen Blättern weniger Amylase fanden und dies als ein Symptom des Hungerzustandes ansprachen. Aber dies war zweifellos auf einen Mangel an organischer Nahrung gemeint, währenddem es sich in unserem Falle um Ionenhunger handelt. Indessen verhehlen wir uns nicht, daß diese Tatsache der größeren Aktivität in hungernden Pflanzen vom chemischen bzw. physikalisch-chemischen Standpunkt aus unerklärlich ist, da man z. B. eben in bezug auf den Ionenantagonismus das Gegenteil erwarten könnte.

Die Abhängigkeit der Amylasenkonzentration vom Alter der Blätter.

Schon die eben angeführten Angaben deuten darauf, daß die Konzentration der Amylase mit dem Alter der Blätter sinkt. Dasselbe wird noch dadurch bestätigt, daß in demselben Zeitpunkt von derselben Pflanze gepflückte Blätter verschiedenen Alters eine Verminderung der Amylase in älteren Blättern aufweisen:

Länge der Blätter	3 bis 4,5	7 bis 10 cm
Amylasenkonzentration *D*	20	17

Einen ähnlichen Zusammenhang stellte schon *Sjöberg* bei Baumblättern fest[2]).

Abhängigkeit der Amylasenaktivierbarkeit von der Ionennahrung der Pflanze.

In denselben Zeitpunkten, wie oben erwähnt, wurde außer der ursprünglichen Konzentration auch die Aktivierbarkeit durch die drei Salze Natrium-, Kaliumnitrat und Kaliumchlorid bestimmt, und zwar in zweierlei Salzkonzentrationen, in n/100 und n Konzentration. Wir führen hier bloß die auffallenderen Angaben mit den n/100 Konzentrationen an, die übrigen sind aus den Tabellen des Anhangs ersichtlich.

Tabelle IV. Aktivierbarkeit der Amylase durch n/100 Salze in verschieden ernährten Pflanzen.

Salze	Proz. *D*							
	am 11. bis 17. Februar		am 6. bis 9. April					
	voll ernährt	ohne K ernährt	voll ernährt	p_H Beginn	p_H Ende	ohne K ernährt	p_H Beginn	p_H Ende
0	100	100	100	6,8	6,9	100	6,6	6,6
n/100 $NaNO_3$.	118	200	*100*	6,8	*)	400	6,6	6,6
n/100 KNO_3 .	129	200	*100*	6,8	*)	400	6,6	6,6
n/100 KCl . .	294	400	*100*	6,8	*)	1600	6,6	6,6

*) Verunglückt.

[1]) *Brown* und *Morris*, Journ. of the Chem. Soc. (London) 1893, S. 609.
[2]) *Sjöberg*, l. c. S. 236.

Die Wirkung der einzelnen Ionen ist im ganzen ähnlich der, die wir schon früher in den orientierenden Versuchen anführten: Unter den Anionen wirkt Cl^-, unter den Kationen K^+ stärker, daher KCl am stärksten.

In beiden Zeitpunkten wird die Amylase der hungernden Pflanzen aktiviert, während die der voll ernährten bloß im ersten Zeitpunkt. Immerhin *ist die Aktivierung in hungernden Pflanzen viel stärker als in voll ernährten.* Nun kommt aber dazu, daß, während die Ionenaktivierbarkeit mit dem Fortschreiten des Hungerzustandes stark anwächst, dieselbe in den normalen Pflanzen auf Null herabsinkt. Dadurch vergrößert sich mit dem Alter der Pflanzen der Unterschied zwischen der Ionenaktivierbarkeit derart, daß, während derselbe im ersten Zeitpunkt noch wenig auffällig ist, er im zweiten Zeitpunkt riesig anwächst.

Wir haben also im Ausmaß der Aktivierung des Enzyms ein Maß für den Hungerzustand der Pflanze.

Eine eigene Behandlung erheischt noch in diesem Zusammenhang die Wasserstoffionenkonzentration der Reaktionsflüssigkeiten, welche wir im ersten Zeitpunkt nicht messen konnten. Immerhin ist ersichtlich, daß die p_H der Reaktionsflüssigkeiten normaler Pflanzen etwas höher sind als die der hungernden. Nun wissen wir aber, insbesondere aus den Untersuchungen von *Michaelis* und *Pechstein*[1]), daß sich das optimale p_H der Enzyme in Anwesenheit von Salzen ändert. Das optimale p_H pflanzlicher Amylasen ist bisher meistens niedriger befunden worden, als jenes p_H, welches unsere Reaktionsflüssigkeiten aufwiesen. Der geringe Unterschied zwischen den tatsächlichen p_H der Flüssigkeiten zweierlei Ursprungs rechtfertigt jedoch bei weitem nicht den großen Abstand in der beobachteten Amylasenwirkung und -aktivierung. Hierzu kommt, daß wir eine Veränderung der p_H während des Experimentes nie beobachten konnten. Wir sind also der Ansicht, besonders in Anbetracht der vielen eindeutigen Versuche, die wir ausführten und die hier nicht alle zu erwähnen sind, daß *der ausschlaggebende Unterschied in der Amylasenaktivierung der Wirkung der Salze zukommt, diese aber eine Funktion der Ernährung ist.*

In Anbetracht all dieser Tatsachen bleibt jedoch noch der Umstand zu erklären, *warum gerade das Chloridion bei den hungernden Pflanzen am stärksten aktiviert,* wo sich doch der Hungerzustand auf das Kalium bezieht. Obzwar das Chlorid, wie aus Tabelle A ersichtlich, in n Konzentration schon merklich hydrolysierend wirkt, kann dies hier nicht in Betracht gezogen werden, da erstmals bei diesen Versuchen eine viel höhere Konzentration der Stärke vorhanden war, als in den betreffenden

[1]) *Michaelis* und *Pechstein*, diese Zeitschr. **59**, 77, 1914.

Fällen der Tabelle A, dann aber es sich hier um Vergleichsversuche handelte. Wir glauben daher den oben erwähnten Umstand durch die Annahme erklären zu können, daß der spezifische Aktivator oder das Coenzym der Rübenamylase das Chloridion ist; nachdem nun die Pflanze nur eine unbalancierte Nährlösung (im Sinne *J. Loebs*) zur Verfügung hatte, konnte das Enzymsystem der Amylase nicht die normale Zusammensetzung erlangen, in welcher eine genügende Menge von Chloridion vorhanden wäre, demnach dies Enzymsystem gewissermaßen einen „Chloridionhunger" aufweist. Daher wird dann eben das Chloridion am stärksten aktivieren.

Aus dem Umstand, daß eine verschiedene Ionennahrung des Organismus eine quantitativ verschiedene Ionenaktivierung der Enzyme zur Folge hat, müssen wir logisch den Schluß ziehen, daß *das Ausmaß der Ionenaktivierung noch kein charakteristisches Merkmal eines Enzyms für seinen Ursprung darstellt*. Wenn auch die neueren Untersuchungen meistens mit dialysierten Säften ausgeführt wurden, zeigen doch vor allem eben die Enzymstudien *Willstätters* und *Eulers*, wie schwer anorganische Beimengungen zu entfernen sind. Dies mag der Grund dafür sein, daß eine Amylaselösung aus Malz nie eine solche Ionenaktivierbarkeit aufweist, wie z. B. Ptyalin[1]), da es nie gelingt, einen Malzauszug mittels Dialyse so weit als Ptyalin zu entaschen[2]). Wir nehmen z. B. auch an, daß das in *Hahns* und *Harpuders* Untersuchungen öfter beobachtete „atypische" Verhalten der Malzamylase seinen Grund vielleicht in einer verschiedenen Ernährung der ursprünglichen Gerste hatte. Dieselben Gründe mögen auch für verschiedene Widersprüche verantwortlich sein, welche in der Literatur bezüglich der „charakteristischen" Aktivierung von Enzymen vorkommen. Natürlich wollen wir eine gewisse Charakterisierungsmöglichkeit von Enzymen mittels Ionenaktivierung keineswegs in Abrede stellen, aber diese wird durch die Wirkung der Ionenernährung des enzymliefernden Organismus mit einer neuen Fehlerquelle behaftet sein.

Dagegen *kann uns die Methode der Ionenaktivierung als ein Merkmal für die Art der Ernährung des Organismus dienen*, was dann so in der Praxis des *Pflanzenbaues* (z. B. in der neuerdings viel umstrittenen *Stimulation* des Saatgutes), wie auch allgemein in der *Pathologie* verwertet werden könnte.

Jedenfalls erwuchsen aus diesen Versuchen eine Anzahl neuer Aufgaben, die durch weitere eingehende Versuche, welche wir uns vorbehalten, gelöst werden müssen. Daher betrachten wir unsere bisherigen Ergebnisse bloß als den Anfang einer größeren Untersuchungsreihe.

---

[1]) *Euler* und *Svanberg*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **112**, 193, 1920.
[2]) *Hahn* und *Harpuder*, Zeitschr. f. Biol. **71**, 287, 1920, und zwar S. 292.

Versuche.

Die Sandkulturen.

Wasserkulturen sind zum Aufziehen von Zuckerrüben ungeeignet und auch Sandkulturen verursachen viel Schwierigkeiten. Nachdem wir darauf bedacht sein mußten, daß die vollen und kalifreien Nährlösungen möglichst denselben osmotischen Druck haben, wäre wohl das Herausfinden der günstigsten Dreisalzlösungen[1]) das vorteilhafteste gewesen, aber dies hätte eine eigens angestellte, große Versuchsreihe erfordert. Daher benutzten wir — mutatis mutandis — die Zusammensetzung der Nährlösung *Stoklasas* und *Matouseks*[2]).

Tabelle V.

Salze	Volle Lösung g	Ohne Kali g	*Stoklasas* Lösung g
KNO_3	1,15	—	1,15
$NaNO_3$	—	0,96	—
$Ca(H_2PO_4)_2 . H_2O$.	0,906	0,906	—
$MgSO_4 . 7H_2O$ . . .	0,246	0,246	—
$NaCl$	0,1	0,1	0,1
$FeCl_3$	0,01	0,01	0,01
$CaSO_4$	—	—	0,2
$MgCl_2$	—	—	0,1

Gesamtvolumen 1 Liter.

Als Sand wurde reiner Quarzsand Nr. 2 benutzt und vor Gebrauch mit 37proz. Salzsäure, dann mit Wasser ausgewaschen und bei etwa 200° getrocknet.

Die Rüben waren aus selektiertem Samen auf dem Felde angebaut, etwa 2 Monate alt, die Wurzel 10 bis 15 cm, die Blätter 15 bis 20 cm lang. Möglichst gleichmäßig entwickelte Exemplare wurden nun Anfang Oktober zum erstenmal in derselben Bodenart in Blumentöpfe umgesetzt, die größten Blätter abgeschnitten, im Glashaus auf einen drehbaren Tisch gestellt und mit destilliertem Wasser bewässert. Schon nach einigen Tagen erholten sie sich und wurden nach einer gewissen Zeit in die Sandkulturen versetzt. Jeder Topf (emaillierte Steinware) hatte eine Kapazität von etwa 8 Liter; auf dem Grund und an der Oberfläche war je eine Schicht (etwa 3 ccm) Quarzkiesel, dazwischen der Sand. An einer Seite ragte ein Glasrohr von etwa 7 bis 8 mm lichter Weite, welches bis an den Grund des Topfes reichte, heraus, zum Wechsel der Nährlösung.

In jeden Topf wurden drei, möglichst gleichmäßig entwickelte Rüben gesetzt, die Blätter wieder gestutzt und Nährlösung bis zu 16 Proz. des Sandes gegeben. Im ganzen hatten wir neun Töpfe mit voller und acht Töpfe mit kalifreier Ernährung. Die Töpfe wurden wieder auf den drehbaren Tisch gesetzt und erhielten den Winter hindurch des Nachts elektrisches Licht. Die Nährlösungen wurden anfangs wöchentlich, von März an zweimal wöchentlich erneuert.

---

[1]) *Livingston* und *Tottingham*, „A new three salt solution", Amer. Journ. of Bot. 5, 337 bis 346, 1918.

[2]) l. c.

Obzwar die Entwicklung der Pflanzen im allgemeinen entsprechend war, konnte man nach Eintritt des stärkeren Sonnenlichtes doch eine viel rüstigere Entwicklung beobachten. Wir hatten auch verschiedene Tierschädlinge zu bekämpfen, was, um jeden störenden chemischen Einfluß zu vermeiden, mit mechanischen Eingriffen sehr gut gelang, so daß unsere Pflanzen schon mehrere Wochen vor der ersten Aufnahme völlig gesund und frei von allen Parasiten waren.

Über die Entwicklung der Versuchspflanzen geben folgende *Durchschnittszahlen für je eine Pflanze* Auskunft:

Tabelle VI.

Organe	Am 10. Februar				Am 8. April			
	Voll ernährte		K-hungrige		Voll ernährte		K-hungrige	
	Länge cm	Gewicht g	Länge cm	Gewicht g	Länge cm	Gewicht g	Länge cm	Gewicht g
Blätter . .	3 bis 15	72	2 bis 11	64	8 bis 15	166	7 bis 15	108
Stiele . . .	—	44	—	38	—	76	—	47
Wurzeln . .	—	99	—	64	—	132	—	88
Zusammen	—	215 g	—	166 g	—	374 g	—	244 g
	—	100 Proz.	—	77 Proz.	—	100 Proz.	—	65 Proz.

Bestimmung der Amylase.

Als Enzymlösung dienten die Preßsäfte der Blätter, wie sie etwa in früheren Versuchen *G. Dobys*[1]) dargestellt wurden. Nachdem man die Blätter, die stets in beiläufig derselben Tageszeit gesammelt wurden, gereinigt und von den Stielen abgetrennt hatte, wurden sie in der Fleischhackmaschine zerkleinert, mit einem Drittel des Gewichts des Breies an Quarzsand zu einer gleichmäßigen, kolloidalen Masse verrieben, durch starke Gaze (sogenannte „Cheese-cloth") mit den Fingern abgepreßt, zwecks genaueren Abwägens mit dem gleichen Gewicht Wasser verdünnt und zum Schluß zentrifugiert. Nachdem diese Lösung meistens noch viel zu aktiv war, wurde sie je nach Bedürfnis 10-, 100-, 1000fach verdünnt.

Als Bestimmungsmethode wurde die *Wohlgemuth*sche gewählt, beiläufig in der Ausführung, wie sie *G. Doby* bei der Kartoffelamylase usw. benutzte, und zwar:

0,1 bis 1,0 ccm *Enzymlösung* (in geometrischer Reihe);

1 ccm lösliche *Stärkelösung*, 0,5proz. (amerikanisches Präparat);

1 bis 2,5 ccm *Salzlösung* (je nach der Konzentration so, daß die Endkonzentration n, n/10, n/100 usw. sei), aufgefüllt mit destilliertem *Wasser* zu 5 ccm.

Wir benutzten keine Puffer, da wir ja eben die Salzwirkung untersuchten und jene dabei gestört hätten[2]). Übrigens sind Pflanzensäfte schon ursprünglich meistens genügend gepuffert[3]), was auch eigene vorläufige Versuche bestätigten.

---

[1]) *G. Doby*, diese Zeitschr. **67**, 166, 1914; **71**, 495, 1915.
[2]) *Chrzaszcz, Bidzinski* und *Krause*, diese Zeitschr. **160**, 155, 1925.
[3]) *Smirnow* und *Alissowa*, ebendaselbst **149**, 63, 1924.

Die Reihenversuche standen 24 Stunden im Wasserbad des Thermostaten bei 38° und waren mit 3 Proz. Toluol steril gehalten. Die p_H-Bestimmungen wurden kolorimetrisch ausgeführt.

Bevor wir an die eingehende Bearbeitung der Untersuchungen schritten, machten wir einige Vorversuche betreffs der „Salzhydrolyse" *Biedermanns*. Die Ergebnisse sind in Tabelle A des Anhangs enthalten.

Alle übrigen Versuchsergebnisse sind in den Zusammenstellungen des Anhangs dargestellt.

Zusammenfassung.

1. Es wurden zwecks weiterer Aufklärung der Rolle der Ionen im Pflanzenorganismus Versuche angestellt, in welchen man die Wirkung einer kaliarmen Ernährung auf die Konzentration und Salzaktivierbarkeit der Amylase der Zuckerrübenblätter untersuchte. Zu diesem Zwecke wurden Zuckerrüben in Sandkulturen bei voller bzw. kalifreier Ernährung gezogen.

2. Im allgemeinen wird die Zuckerrübenamylase von Anionen (Cl, F, NO_3) und von den Kationen (K, Na) aktiviert; am stärksten von Cl^-.

3. Amylase von voll ernährten Pflanzen ist schwächer als jene von kalihungrigen.

4. Die Konzentration des Enzyms sinkt mit fortschreitender Entwicklung der Pflanze, und zwar in voll ernährten stärker als in kalihungrigen.

5. Die Aktivierbarkeit der Amylase durch Ionen ist in hungernden Pflanzen größer als in voll ernährten und erlischt bei letzteren im Laufe der Entwicklung gänzlich.

6. Es wird eine Erklärung für den Umstand, warum die Amylase kalihungriger Pflanzen durch das Chloridion stärker aktiviert wird als durch das Kaliumion, versucht.

7. Das Ausmaß der Aktivierung stellt demnach ein Maß für den Hungerzustand der Pflanze dar.

8. Die Aktivierbarkeit eines Enzyms ist nicht nur von dem Charakter desselben, sondern auch von der Ernährungsart des Organismus abhängig.

9. Es wird ein Ausblick auf die Verwertung dieser Ergebnisse im Pflanzenbau und in der Pathologie eröffnet.

Der experimentelle Teil dieser Arbeit wurde im physiologischen Laboratorium des *Botany Department of the Michigan State College* (U. S. A.) im Schuljahre 1924/25, welches ich als Gast-Professor dort verbrachte, mit den Mitteln dieser Hochschule und der Unterstützung der American Hungarian Foundation ausgearbeitet. Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Präsidenten Dr. *K. L. Butterfield*, sowie allen meinen amerikanischen Freunden, besonders aber dem Vorstand des Botany Department, Prof. Dr. *E. A. Bessey* meinen wärmsten Dank für die herzliche Gastfreundschaft, derer ich teilhaft wurde, auszusprechen. *G. Doby.*

Anhang.

Tabelle A. Salzhydrolyse der Stärke bei 38°.

Salzkonzentration	0,5 proz. Stärke auf 10 ccm aufgefüllt ccm	p_H zu Beginn	p_H zu Ende	Jodreaktion nach 24 Stunden
—	0,2	6,9	6,9	Dunkelblau
	1,0	6,9	—	
	2,0	6,9	6,8	
n/100 $NaNO_3$	0,2	6,9	7,0	Lichtblau
	1,0	7,0	—	Dunkelblau
	2,0	6,9	7,0	
n/100 KNO_3	0,2	7,0	7,0	Violett
	1,0	7,0	—	Dunkelblau
	2,0	7,0	7,0	
n/100 KCl	0,2	6,8	7,0	Violett
	1,0	6,8	—	Dunkelblau
	2,0	6,9	7,0	
n $NaNO_3$	0,2	6,9	7,0	Lichtblau
	1,0	6,9	—	Dunkelblau
	2,0	6,8	7,0	
n KNO_3	0,2	6,9	6,9	Lichtblau
	1,0	6,9	—	Dunkelblau
	2,0	6,8	6,9	
n KCl	0,2	7,0	7,0	Gelb
	1,0	6,9	—	Dunkelblau
	2,0	6,9	6,9	

Tabelle B. Salzwirkung auf das p_H der Enzymlösung. (Das Totalvolumen ist immer 10 ccm.)

Salzkonzentration	Enzym ccm	p_H zu Beginn	p_H nach 2 Tagen
0	—	6,6	6,7
	0,0001	6,7	6,7
	0,001	6,7	6,7
	0,01	6,7	6,7
	0,1	6,7	6,7
n/10 KNO_3	—	6,7	6,7
	0,0001	6,7	6,7
	0,001	6,7	6,7
	0,01	6,7	6,7
	0,1	6,7	6,7
n KNO_3	—	6,7	—
	0,0001	6,8	6,9
	0,001	6,7	6,8
	0,01	6,8	6,8
	0,1	6,7	6,7

Tabelle Ia.

Salzaktivierung in n Konzentration.

Salzkonzentration	L ccm	$D_{24^h}^{38^0}$	Proz. D	p_H zu Beginn	p_H zu Ende
0	0,025	40	100	6,7	6,5
n $NaNO_3$ . .	0,0125	80	200	6,7	6,7
n KNO_3 . . .	0,0125	80	200	6,7	6,7
n KCl	0,00038	2631	6580	6,7	6,7

Tabelle IIa.

Salzaktivierung bei verschiedener Salzkonzentration.

Salzkonzentration	$NaNO_3$			KNO_3			KCl		
	L ccm	$D_{24^h}^{38^0}$	Proz. D	L ccm	$D_{24^h}^{38^0}$	Proz. D	L ccm	$D_{24^h}^{38^0}$	Proz. D
0	0,025	40	100	0,04	25	100	0,06	17	100
n/10000 .	0,025	40	100	—	—	—	0,04	25	150
n/1000 . .	—	—	—	0,025	40	160	—	—	—
n/100 . . .	0,015	67	168	0,025	40	160	0,01	100	590
n/10 . . .	—	—	—	0,025	40	160	—	—	—
n	0,025	40	100	0,0015	667	2670	0,0015	670	3920

Tabelle IVa.

Ionenaktivierung der Amylase bei verschiedener Ionenernährung der Pflanzen.

(Erste Aufnahme 11. bis 17. Februar.)

Salzkonzentration	In voll ernährten Pflanzen				In K-hungrigen Pflanzen			
	Tag der Bestimmung	L ccm	$D_{24^h}^{38^0}$	Proz. D	Tag der Bestimmung	L ccm	$D_{24^h}^{38^0}$	Proz. D
0	15. II.	0,055	18	100	11. II.	0,03	33	100
n $NaNO_3$ . . .		0,04	25	139		0,01	100	300
n KNO_3 . . .		0,04	25	139		0,01	100	300
n KCl		0,02	50	278		0,005	200	600
0	17. II.	0,06	17	100	13. II.	0,04	25	100
n/100 $NaNO_3$.		0,05	20	118		0,02	50	200
n/100 KNO_3 .		0,045	22	129		0,02	50	200
n/100 KCl . . .		0,02	50	294		0,01	100	400

Es wurde immer derselbe Preßsaft, aber mit Toluol im Eisschrank aufbewahrt, benutzt.

Tabelle IVb.

Ionenaktivierung der Amylase bei verschiedener Ionenernährung der Pflanzen.
(Zweite Aufnahme 6. bis 9. April.)

Salzkonzentration	In voll ernährten Pflanzen						In K-hungrigen Pflanzen					
	Tag der Bestimmung	L ccm	$D_{24^h}^{38^0}$	Proz. D	p_H zu Beginn	p_H zu Ende	Tag der Bestimmung	L ccm	$D_{24^h}^{38^0}$	Proz. D	p_H zu Beginn	p_H zu Ende
0	9. IV.	0,06	17	100	6,9	7,0	7. IV.	0,06	17	100	6,7	6,8
n $NaNO_3$ . .		0,04	25	147	6,9	7,0		0,01	100	588	6,7	6,7
n KNO_3 . . .		0,02	50	294	6,9	6,9		0,01	100	588	6,8	6,8
n KCl		0,0075	133	782	6,9	7,0		0,005	200	1176	6,7	6,9
0	8. IV.	0,2	5	100	6,8	6,9	6. IV.	0,04	25	100	6,6	6,6
n/100 $NaNO_3$.		0,2	5	100	6,8	*)		0,01	100	400	6,6	6,6
n/100 KNO_3 .		0,2	5	100	6,8			0,01	100	400	6,6	6,6
n/100 KCl . .		0,2	5	100	6,8			0,0025	400	1600	6,6	6,6

*) Verunglückt.

Es wurde immer derselbe Preßsaft, mit Toluol von einem Tage zum anderen konserviert, benutzt.

Titrationsverfahren zur Bestimmung der Blutharnsäure.

Von

L. Flatow (München).

(Eingegangen am 6. Juli 1926.)

Prinzip.

Harnsäure wird bereits in der Kälte, selbst in stark verdünnter Lösung, von zwei Molekülen *Ferricyankalium* zu Allantoin oxydiert. Das Enteiweißungsfiltrat von Blutserum wird deshalb mit einem gemessenen Überschuß von Ferricyankalium versetzt und der eingetretene Verbrauch durch Rücktitration ermittelt. Zur Titration des Ferricyankaliums findet indigoschwefelsaures Natrium Verwendung. Die blaue Lösung dieser Substanz wird nämlich durch Ferricyankalium gelb bzw. in den hier verwendeten großen Verdünnungen farblos. [Zwei Moleküle $K_3(FeCy)_6$ oxydieren ein Molekül der Indigoverbindung.]

Notwendige Reagenzien.

1. Zur Enteiweißung von *Serum* dient *entweder* 1,65proz. Uranylacetatlösung *oder* 10proz. Natriumwolframatlösung und $^2/_3$ n Schwefelsäure; zur Enteiweißung von Vollblut *nur* Wolframat und Schwefelsäure.

2. Zur Bestimmung selbst: Eine Lösung von 0,3914 g Ferricyankalium ad 1000,0 Wasser. 0,1 ccm dieser Lösung entspricht *einem hundertstel Milligramm* Harnsäure. Die Lösung ist in brauner Flasche titerfest.

3. Natriumcarbonat (pro analysi): Gesättigte Lösung.

4. Stammlösung von *indigoschwefelsaurem Natron* (*Kahlbaum*), etwa 0,22 g auf 1000 ccm Wasser, dem 0,3 Proz. Natriumfluorid zugesetzt sind. Diese antiseptische Stammlösung wird zum Gebrauch *fünffach* verdünnt, so daß 1 ccm von ihr ungefähr durch 0,2 ccm Ferricyankalium entfärbt wird. Die Lösung ist nicht völlig titerfest, genaue Einstellung daher überflüssig.

Ausführung im Serum.

3,0 ccm hämoglobinfreies Serum werden im Reagenzglas mit 9,0 ccm destillierten Wassers, alsdann mit 3,0 ccm Uranylacetat versetzt. Nach kräftigem Durchschütteln erfolgt Filtration durch ein trockenes Filter. Man erhält 8 bis 10 ccm des somit im Verhältnis 1 : 5 verdünnten, enteiweißten Serums. Diese Menge reicht für zwei bis drei Bestimmungen aus.

Man nimmt je 3,0 ccm des Filtrats (0,6 ccm *Serum* entsprechend), setzt in weitem farblosen Reagenzglas etwa 1 ccm Natriumcarbonat hinzu und 0,6 ccm Ferricyankalium. Erwartet man nicht extrem hohe Werte, so genügen von letzterem Reagens bereits 0,4 ccm. Man wartet 1 bis 3 Minuten und läßt nun aus fein geteilter Glashahnbürette die verdünnte Blaulösung hinzutropfen. Man titriert gegen weiße Unterlage, das Reagenzglas in Aufsicht und Durchsicht betrachtend. Die eben noch erkennbare Gelbfärbung des Ferricyankaliums verschwindet, während jeder Tropfen Blaulösung sofort entfärbt wird. Nach Einübung läßt sich der Umschlag auf einen Tropfen genau feststellen, die Titration gilt jedoch erst als beendet, wenn die Bläulichfärbung $^1/_2$ Minute bestehen bleibt. Die Titerstellung der Blaulösung, die grundsätzlich jeder Harnsäurebestimmung, um Fehler durch Beleuchtungsdifferenzen auszuschalten, vorausgehen soll, vollzieht sich an der gleichen Menge Ferricyankalium und am gleichen Volumen wie bei der Bestimmung selbst.

Die günstigste Beleuchtung für die Titration bietet Tageslicht, wobei man direkte Sonne auszuschalten hat; bei tagesähnlicher Beleuchtung (z. B. „Reinlicht") läßt sie sich gleichfalls durchführen. Gelbliches Kunstlicht ist unbrauchbar.

Berechnung.

Sie erfolgt nach den üblichen Regeln der Stöchiometrie. Der Einfachheit halber wird nachfolgend eine Formel wiedergegeben, welche die Blutharnsäure sofort in der üblichen Weise in Milligrammen pro 100 ccm Serum (oder Vollblut) ausdrückt:

$$H = \frac{F}{M} \times \frac{A - B}{A}.$$

Darin bedeutet:

H = Milligramm-Prozent Harnsäure,
F = Anzahl der verwendeten *zehntel* Kubikzentimeter Ferricyankalium,
M = Anzahl der bei der *Einzelbestimmung* verwendeten *Kubikzentimeter* unverdünnten Serums oder Blutes,
A = den Verbrauch an Blaulösung bei der Titerstellung,
B = den Verbrauch an Blaulösung bei der Harnsäurebestimmung.

Die Gesamtdauer einer Harnsäurebestimmung vom Augenblick der erfolgten Enteiweißung beträgt kaum 5 Minuten. Meine titrimetrische Harnsäurebestimmung besitzt vor der kolorimetrischen nach *Folin* gewisse Vorzüge, die grundsätzlich wohl auf der Tatsache beruhen, daß die Oxydation mit Ferricyankalium eine quantitativ verlaufende, daher stöchiometrisch verwertbare Reaktion darstellt, während die Reaktion zwischen Harnsäure und Phosphorwolframsäure von einem Gleichgewicht abhängig ist (*Steinitz*). Farbintensität und Harnsäurekonzentration sind deshalb beim kolorimetrischen Verfahren nur innerhalb enger Grenzen einander proportional, und das auch nur bei Innehaltung sonst gleicher Versuchsbedingungen. Die Schaffung dieser gleichen Versuchsbedingungen (z. B. hinsichtlich Keilfüllung und der zu untersuchenden Lösung) bewirkt immerhin eine gewisse Umständlichkeit beim *Folin*schen Verfahren, besonders wenn man bei nur gelegentlichen Bestimmungen der Haltbarkeit der nicht sehr beliebten „Standardharnsäurelösung" mißtraut. Letztere erübrigt sich natürlich bei meinem Verfahren.

Bestimmung im Gesamtblut.

Im Blut*serum* kommen keine Substanzen vor oder nicht in störenden Mengen, die in der Kälte und bei der vorgeschriebenen Einwirkungsdauer von 1 bis 3 Minuten Ferricyankalium reduzieren und dadurch zu hohe Harnsäurewerte vortäuschen können. Kreatinin wirkt z. B. in den vorliegenden Verdünnungen noch nicht; Traubenzucker bleibt in der Kälte auch in hohen Konzentrationen innerhalb dieser Zeit ohne meßbaren Einfluß. *Anders im Vollblut!* Die Erythrocyten enthalten vermutlich *zwei* Substanzen, die in das Enteiweißungsfiltrat übertreten, die sowohl die *Folin*sche Phosphorwolframsäure bläuen, wie auch Ferricyankalium reduzieren. Ihre obligate Anwesenheit pflegt Harnsäuremengen von 10 bis 17 mg-Proz. vorzutäuschen, wenn man in ähnlich einfacher Weise wie beim Serum die Bestimmung direkt im Enteiweißungsfiltrat vornimmt. *Ich* fand, daß diese Substanzen bei carbonatalkalischer Reaktion und Luftzutritt in 15 Minuten zerstört werden und ihre Reduktionskraft einbüßen. Der naheliegende Gedanke, nach der so erfolgten Vernichtung die Harnsäure titrimetrisch zu bestimmen, ist nicht zufriedenstellend zu verwirklichen, weil auch die Harnsäure nicht völlig sauerstoffbeständig ist und gelegentlich weitgehend mitoxydiert wird. Wie mir verspätet bekannt wurde, ist von amerikanischer Seite neuerdings (*Bulmer*, *Eagles* und *Hunter*

in gemeinsamer Arbeit) diesen Körpern Aufmerksamkeit gewidmet worden[1]).

Jedenfalls zwingt ihre Anwesenheit im Enteiweißungsfiltrat des Vollblutes zu dem nur wenig mühevollen Umweg, zunächst die Harnsäure als Silbersalz auszufällen. Nach *Folins* Angaben hergestellte Silberlactatlösung bewirkt diese Fällung quantitativ, wobei der *eine* der eben erwähnten Körper zwar mitgefällt wird, aber vom Silberurat leicht getrennt werden kann. *Folin* zerlegt das mit Silberchlorid gemeinsam ausfallende Silberurat nach erfolgtem Abzentrifugieren mit n/10 Salzsäure, die zur Bindung überschüssigen Silbers 10 Proz. Kochsalz enthält. In diese Zersetzungsflüssigkeit tritt die Harnsäure über, und *Folin* bestimmt sie darin kolorimetrisch. Ganz analog kann man vorgehen, wenn man den letzten Akt titrimetrisch vollziehen will. Untersucht man nun den mit Salzsäure-Kochsalzlösung extrahierten Silberniederschlag, so ergibt sich, daß er noch die erwähnte Ferricyankalium reduzierende Substanz enthält, die durch weiteres Extrahieren dem Niederschlag nicht entzogen werden kann. Ihre Quantität ist erheblich und beträgt zumeist etwa 50 Proz. des ermittelten Harnsäurewertes. Ich bestimme diese „Restreduktion", indem ich den Silberniederschlag mit Sodalösung aufwirbele, zur Lösung des Chlorsilbers ein Kriställchen Thiosulfat hinzufüge, alsdann Ferricyankalium und dann titriere. Kontrollen zeigen, daß die Anwesenheit von Silber und Thiosulfat keine Titrationsfehler bewirken, und daß die Reduktion daher tatsächlich einem neuen Blutbestandteil zukommt.

Es handelt sich zweifellos um die gleiche Substanz, die *Benedict* kürzlich isoliert hat. Er hatte ebenso wie die oben zitierten Autoren (*Bulmer, Eagles, Hunter*) festgestellt, daß der mit Salzsäure-Kochsalz extrahierte Silberniederschlag nach Auflösen in Cyankaliumlösung noch eine Bläuung mit Phosphorwolframsäure hervorruft. In mühevoller Arbeit hat *Benedict* 1 g dieser Verbindung isolieren können und kristallisiert erhalten. Nähere Mitteilungen über sie stehen noch aus.

Es dürfte zweckmäßig an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß schon vor längerer Zeit *Robert Bass* gefunden hatte, daß die Enteiweißungsfiltrate von *Vollblut* bei Vermeidung eines erheblichen Ammoniaküberschusses auch mit Silber-Magnesiamischung Niederschläge ergeben, deren Stickstoffgehalt nur zum kleinsten Teil der darin enthaltenen Harnsäure zukommt. Das 10- bis 30fache an darin vorhandenem Harnsäurestickstoff sollte *Purin*stickstoff sein. *Adenin* glaubt er durch den Schmelzpunkt seines Pikrats darin identifiziert zu haben.

Wie beträchtlich in der Tat der durch Silberlactat aus Vollblutfiltraten erhaltene Niederschlag an „*Nicht*chlorsilber" ist, zeigt schon sein Aus-

[1]) In einer früheren Arbeit von mir (Münch. med. Wochenschr. 1926, Nr. 1, S. 12) wurden diese Erythrocytenbestandteile irrtümlich zur Blutharnsäure in Beziehung gebracht. Die Berichtigung dortselbst 1926, Heft 6, S. 268.

sehen und physikalisches Verhalten. *Ich* fand, daß er gegenüber den Niederschlägen aus *Serum*filtraten im Zentrifugengläschen deutlich gelblich und transparenter erscheint. Beim Aufschütteln mit *Folins* Salzsäure-Kochsalzmischung bleiben die Niederschläge, die den Serumfiltraten entstammen, in groben käsigen Brocken nur wenig verteilbar zurück, während die Silberniederschläge aus Vollblutfiltraten ganz fein verteilt, fast milchig aufgewirbelt werden.

Ausführung der Harnsäurebestimmung im Vollblut.

5,0 ccm Blut werden mit 35,0 ccm Wasser hämolysiert; 5,0 ccm Natriumwolframatlösung (10proz.) werden hinzugefügt und dann unter Umschütteln 5,0 ccm $^2/_3$ n Schwefelsäure. Filtration durch ein trockenes Filter. Man erhält 20 bis 30 ccm des im Verhältnis 1 : 10 verdünnten Blutenteiweißungsfiltrats, ausreichend für vier bis fünf Bestimmungen.

Zu je 5 ccm des Filtrats setzt man in einem Zentrifugengläschen 2 ccm der neuerdings 10prozentig angegebenen Silberlactatlösung[1]).

Überflüssige Belichtung vermeidend, zentrifugiert man nach etwa einer Minute den Niederschlag, der sich bereits nach wenigen Umdrehungen in dem Spitzglas absetzt. Nach Fortschütten des Zentrifugats wird er in 1 bis 2 ccm 10proz. NaCl enthaltender n/10 Salzsäure aufgewirbelt, indem man das Zentrifugenglas mit einem nur diesem Zwecke dienenden Gummistopfen verschließt. Man fügt noch etwa 2 ccm Wasser hinzu und zentrifugiert erneut. Das Zentrifugat wird quantitativ in ein weites Reagenzglas gegossen und *zuerst* mit 1 ccm Soda versetzt, dann fügt man ihm zur Beseitigung einer meist bestehenden leichten Trübung ein winziges Körnchen Natriumthiosulfat hinzu, setzt 0,4 ccm Ferricyankalium hinzu und titriert, wie oben angegeben. Das zugesetzte Thiosulfat darf die vielleicht noch säurebenetzten Gefäßwände nicht berühren.

Zwecks Titration der „Restreduktion" wird der im Spitzglas befindliche Silberniederschlag mit wenig Wasser unter Lichtausschluß aufgewirbelt, in ein Reagenzglas überspült, dort mit Soda versetzt, alsdann mit Ferricyankalium und Thiosulfat und ebenso titriert.

Auch diese in der Beschreibung etwas umständlich erscheinende Methode der Harnsäurebestimmung im Vollblut nimmt, vom Augenblick der Enteiweißung an gerechnet, nur etwa 6 bis 8 Minuten in Anspruch. Sie besitzt keine außergewöhnlichen Schwierigkeiten; nur muß man bei einem Verfahren, das bestimmt ist, Harnsäuremengen

[1]) 10 g Silberlactat in 70 ccm warmen destillierten Wassers gelöst. Dazu eine Mischung von 10 ccm 85proz. Milchsäure mit 10 ccm 10proz. Natronlauge. Auffüllen auf 100 ccm. Vor Gebrauch filtrieren.

von durchschnittlich $^2/_{100}$ mg *titrimetrisch* zu bestimmen, Sorgfalt auf Titerstellung und Umschlag verwenden. Der Titer der Blaulösung scheint sich gelegentlich sprunghaft zu ändern. Für alle Bestimmungen verwendet man stets die gleichen, für andere Zwecke nicht benutzten Gefäße. Fehlresultate treten dann kaum auf. Die unvermeidlichen Abweichungen der einzelnen Bestimmungen betragen $^1/_{1000}$ mg. Die prozentuale Genauigkeit ist durch Verwendung größerer Mengen Enteiweißungsfiltrat natürlich zu steigern.

Literatur.

O. Folin, Journ. of biol. Chem. **54**, Nr. 2, 1922 (nach Ref.). — *Steinitz*, diese Zeitschr. **90**, 108, 1918. — *Bulmer*, *Eagles* und *Hunter*, Journ. of biol. Chem. **63**, 1925, Heft 1. — *Benedict*, ebendaselbst **64**, 1925 (Ref. im Centralbl. f. d. ges. inn. Med. 1926, Bd. 41, S. 253). — *Bass*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **76**.

Über den Sulfatgehalt im Blutserum und Kammerwasser.

Von

W. Heubner und **R. Meyer-Bisch** (Göttingen).

(Eingegangen am 7. Juli 1926.)

Vor einigen Jahren hatten wir gemeinsam[1]) eine Analyse von menschlichem Blutserum mitgeteilt, in der wir den Wert von 23,6 mg-Proz. SO_4 erhielten. Er war gewonnen durch *Dialyse* des Serums mit Hilfe von *Schleicher-Schüll*schen Dialysierhülsen bei fortgesetzter Erneuerung des Außenwassers. Da er hinreichend übereinstimmte mit Angaben von *Gürber* und *Rosenschein*[2]) über Pferdeserum und von *de Boer*[3]) über Rinderserum, zweifelten wir nicht an der Richtigkeit des Befundes. Etwa gleichzeitig mit uns hatte *Stransky*[4]) das Serum von Kaninchen und Schweinen analysiert und Werte zwischen 38 und 46 mg-Proz. SO_4 angegeben.

Später untersuchte *Meyer-Bisch*[5]) an einer größeren Zahl klinischer Patienten das Serum und den Liquor nach dem gleichen Verfahren auf Sulfat, ebenso das Serum von Hunden. Die dabei erhaltenen Zahlen lagen vielfach erheblich höher als die früher ermittelten (von 20 bis 25 mg-Proz. SO_4). Zweifel an ihrer Zuverlässigkeit tauchten auf, nachdem *Budde* und *Freudenberg*[6]) darauf aufmerksam gemacht hatten, daß fabrikmäßig hergestellte Dialysierhülsen keineswegs frei sind von auswaschbaren Mineralstoffen; eine Nachprüfung ergab denn auch einen deutlichen Gehalt an löslichem Sulfat in den Hülsen von *Schleicher* und *Schüll*. Überdies hatten *W. Denis*[7]) und *Haurowitz*[8])

---

[1]) Diese Zeitschr. **122**, 120, 1921.

[2]) Weitere Beiträge zur Kenntnis der Blutsalze. Inaug.-Diss., Würzburg 1899.

[3]) Journ. of Physiol. **51**, 211, 1917.

[4]) Diese Zeitschr. **122**, 1, 1921.

[5]) Ebendaselbst **150**, 23, 1923.

[6]) Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **42**, 286, 1924.

[7]) Journ. of biol. Chem. **49**, 311, 1921.

[8]) Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **128**, 290, 1923.

Untersuchungen bekanntgegeben, nach denen der Sulfatgehalt des Blutserums und der Zerebrospinalflüssigkeit wesentlich niedriger anzusetzen ist als nach den eingangs genannten Analysen; nach *Denis* ist der Sulfatgehalt des Serums beim Menschen gleich 1,5 bis 3,3 mg-Proz. SO_4; im Liquor cerebrospinalis fand *Haurowitz* für *Gesamtschwefel* (nach Veraschung) geringe Schwankungen um den Mittelwert 3,3 mg-Proz. SO_4, wovon er vier Fünftel, also etwa 2,8 auf anorganisches Sulfat rechnet. Später gab *Browinsky*[1]) für Rinder- und Pferdeserum (nach Veraschung?) Werte zwischen 27 und 35 mg-Proz. SO_4 an, *Kahn* und *Postmontier*[2]) für normale Menschen 3 bis 9 mg-Proz. SO_4 als Sulfat, bei verschiedenen Krankheiten oft höhere Werte (bis zu 36 mg-Proz.). Neuerdings veröffentlichte *Yoshimatsu*[3]) Serumanalysen, die für das Pferd 5,9 bis 7,0, für das Rind 7,6 bis 9,7, für einen Menschen (bei kongenitaler Lues) 6,7 mg-Proz. SO_4 ergaben.

Wir hielten daher eine Nachprüfung unserer früheren Analysen für geboten und änderten unser Verfahren gegenüber früher ab: Wir verwendeten Ultrafiltrate von Serum, die ja mit dem ausgezeichneten Verfahren von *Bechhold*[4]) jetzt so bequem zu erhalten sind. Natürlich wurde großer Wert darauf gelegt, daß die verwendeten Ultrafilter lange Zeit in ergiebigster Weise mit destilliertem Wasser ausgewaschen waren. Die Ultrafiltrate sind gegenüber der Ausgangsflüssigkeit — infolge Verdampfung von Wasser — stets etwas konzentriert; in mehreren Versuchen wurde daher ihr Volumen ebenso wie das der auf dem Filter zurückgebliebenen Flüssigkeit zurückgemessen und deren Summe mit dem Volumen des zur Filtration benutzten Serums verglichen. Die erhaltenen Sulfatwerte wurden dann entsprechend korrigiert.

Ob die Korrektur in dieserWeise berechtigt ist, mag zweifelhaft bleiben, da in denjenigen Versuchen (4, 10 bis 13), in denen zur Filtration eine Nutsche verwendet und diese mit einer Glasplatte bedeckt gehalten wurde, die Verdunstungsverluste sehr gering waren. Doch würden die nicht korrigierten Zahlen maximal um 20 Proz. ihres Wertes nach oben abweichen.

In den erhaltenen, stets eiweißfreien Ultrafiltraten wurde das Sulfat durch Bariumchlorid bei saurer Reaktion in der Hitze ausgefällt, der Niederschlag nach dem Absetzen durch einen Mikrofiltertiegel der Berliner Porzellanmanufaktur filtriert, wobei stets ein vollkommen klares Filtrat erhalten wurde, mindestens bei mehrmaligem Aufgießen auf das Filter. Die Wägung erfolgte auf 0,1 mg genau,

---

[1]) Bull. de la soc. de Chemie biologique **6**, 352, 1924.
[2]) Journ. of laborator. and clinic med. **20**, 317, 1925.
[3]) Tohoku journ. of exper. Med. **7**, 119, 1926.
[4]) *Bechhold* und *Gutlohn*, Zeitschr. f. angew. Chem. **37**, 494, 1924.

zum Teil auf der Mikrowage auf 0,01 mg. Die Analysen wurden zum Teil (Nr. 5 bis 9) von *W. Heubner* im Pharmakologischen Institut, zum Teil von Dr. *Dorothee Bock* im Laboratorium der medizinischen Klinik, also unabhängig voneinander, ausgeführt. Die Ergebnisse waren:

Nr.	Spezies	Datum	Krankheit	Alter	Geschlecht	Serummenge zur Filtration ccm	Ultrafiltrat ccm	Rückstand ccm	Zur Analyse Filtrat ccm	Gefundenes Ba SO_4 mg	SO_4 mg-Proz.
1	Mensch	5. II. 26	Myodegeneratio	57	♂	70	36	25	15	1,6	3,8
2	„	8. II. 26	normal		♂	50	21,5	20	20	1,8	3,1
3	„	9. II. 26	Hirnembolie	35	♀	75	32	31	15	1,9	4,4
4	„	16. II. 26	normal		♂	70	36	32	15	1,0	2,7
5	„	26. V. 25	„						49	5,12	4,3
6	„	9. XI. 25	„				43	20	43	3,59	3,4
7	„	25. VII. 25	„			125	40		40	4,79	4,9
8	Rind	4. VI. 25							100	24,95	10,3
9	„	14. VII. 25							50	16,76	13,9
10	„	2. III. 26				60	35	21	15	3,4	8,7
11	„	16. III. 26				80	42	37	20	6,2	12,6
12	Kaninchen	9. VI. 26				44	32	11	15	4,2	11,3
13	„	9. VI. 26				32	22	9	20	5,0	10,0

Unsere Zahlen stimmen am besten mit denen von *Denis* überein, obwohl dieser methodisch anders vorging als wir, nämlich das Eiweiß durch Fällung entfernte und den Niederschlag von Bariumsulfat nicht gravimetrisch, sondern nephelometrisch bestimmte. Er gab für Sera von Menschen Werte von 1,5 bis 3, vom Rinde 5 bis 10, von Kaninchen 10 mg-Proz. SO_4 an. Auch nach unseren Analysen ist der Sulfatgehalt beim Menschen erheblich niedriger als bei den untersuchten Pflanzenfressern, wenn auch die meisten mehr als 3 mg-Proz., nämlich bis zu 4,9 mg-Proz. SO_4 ergeben haben. Im Mittel von sieben Analysen fanden wir 3,8 mg-Proz. SO_4, bei Rind und Kaninchen 11 mg-Proz. SO_4.

Unsere früheren höheren Zahlen halten wir heute für verfälscht durch Analysenfehler, und zwar für zu hoch. Gleiches dürfte für die Zahlen von *Stransky* und anderen Untersuchern zutreffen. Die eine von *Yoshimatsu* für den Menschen angegebene Zahl dürfte ebenfalls abnorm sein, vielleicht wegen Alter und Krankheit des untersuchten Individuums. Daß bei verschiedenen Erkrankungen, vor allem der Nieren, die Sulfatwerte steigen, hatte bereits *Denis* ermittelt und geht aus den Analysen von *Meyer-Bisch*, sowie *Kahn* und *Postmontier* hervor, selbst wenn man die Zweifel an der Richtigkeit der *absoluten* Höhe der Werte berücksichtigt.

Außer den angeführten Blutseren wurde auch *Kammerwasser* von Kaninchen der Analyse unterzogen: Von je zehn Tieren wurde nach Cocainisierung des Konjunktivalsacks mit einer Spritze das Kammerwasser beiderseits entnommen, das für jedes Auge im Durchschnitt 0,25 bis 0,3 ccm betrug. Die erhaltene Gesamtflüssigkeit von 5 bis 6 ccm wurde unter Umständen nach Entfernung eines feinen Fibrinschleiers gekocht, mit einigen Tropfen Essigsäure versetzt und von den ausfallenden spärlichen Eiweißflöckchen unter sorgfältigem Nachwaschen abfiltriert; das klare Filtrat wurde mit wenig Salzsäure versetzt und mit Bariumchlorid in der Hitze gefällt, der gewaschene und geglühte Niederschlag auf der Mikrowage gewogen. Im Versuch 15 waren zwei von den zehn benutzten Kaninchen die gleichen, die die Sera 12 und 13 geliefert hatten; sie wurden unmittelbar nach Entnahme des Kammerwassers aus den Karotiden entblutet.

Die Ergebnisse am Kammerwasser waren:

Nr.	Menge des analysierten Kammerwassers ccm	$BaSO_4$ mg	SO_4 mg-Proz.
14	5,1	0,72	5,8
15	6,0	0,93	6,4

Der Befund im Kammerwasser der Kaninchen, demzufolge dieses eine merklich geringere Konzentration an Sulfat enthält als das Ultrafiltrat des Serums, scheint uns recht auffällig; beide Flüssigkeiten wurden ohne Einengung und ohne wesentliche Verdünnung zur Fällung mit Bariumchlorid gebracht, so daß ein methodischer Fehler schwer zu finden ist, der den Befund erklären könnte.

Unwahrscheinlich, wenn auch nicht unmöglich, will es uns scheinen, daß die Ausflockung der im Kammerwasser enthaltenen geringen Eiweißmengen Sulfat mit niedergeschlagen habe; Analysen von Ultrafiltraten des Kammerwassers würden dies klären können. Entsprechend dem Verhalten des Chlorids und nach dem *Donnan*schen Gesetz sollte man im Kammerwasser eher *mehr* Sulfat erwarten als im Serum. Warum das Umgekehrte gefunden wurde, bedarf noch künftiger Erklärung.

Wenn es erlaubt wäre, bei den Analysen so kleiner Substanzmengen die Zahlen verschiedener Autoren miteinander zu vergleichen, so würde man aus den Werten von *Denis* und *Haurowitz* folgern müssen, daß der Sulfatgehalt im Liquor der gleiche ist wie im Blutserum. Unsere im ganzen etwas höheren Werte (mit dem Mittel 3,8) würden allerdings im Vergleich zu dem Mittelwert von *Haurowitz* (2,8) dafür sprechen,

daß der Sulfatgehalt im Liquor des Menschen ebenfalls geringer ist als in seinem Serum. Bestätigt sich dies, so scheint uns in diesem Verhalten des Sulfats ein ganz interessantes Problem vorzuliegen.

Zusammenfassung.

1. In Ultrafiltraten menschlicher Blutsera wurden 3 bis 5 mg-Proz. SO_4 ermittelt; die früheren höheren Zahlen werden als entstellt durch methodische Fehler betrachtet.

2. An Kaninchen und Rindern wurde ein dreimal höherer Sulfatgehalt im Serumfiltrat gefunden (9 bis 14 mg-Proz. SO_4).

3. Am Kammerwasser von Kaninchen lagen die Sulfatwerte nur etwa halb so hoch wie im Serumfiltrat (6 mg-Proz. SO_4).

Zur Frage nach dem Chemismus der Manoilowschen Reaktion und ihrer Spezifität.

Von

M. J. Galwialo, G. E. Wladimirow, A. P. Winogradow und W. W. Oppel.

(Aus dem Laboratorium für physiologische Chemie an der Militär-Medizinischen Akademie zu Leningrad.)

(Eingegangen am 7. Juli 1926.)

Etwa vor 3 Jahren hat *Manoilow* eine Reaktion für die Geschlechtsbestimmung im Blute des Menschen und der Tiere vorgeschlagen. Diese Veröffentlichung erweckte allgemeines Interesse und zog eine Reihe von Arbeiten nach sich.

Ein Teil derselben ist der Prüfung dieser Reaktion und ihrer Anwendung auf andere biologische Flüssigkeiten sowie auf andere Tierarten, auf Pflanzen und selbst Mineralien gewidmet (*Manoilow, Egorow, Issaewa, Grünberg, Bernatzki*). Andere Autoren beschäftigten sich mit dem Verlauf der Reaktion bei verschiedenen pathologischen Zuständen des Organismus (*Popow, Kusnetzow, Ssolowtzowa* und *Okunew, Ssolowtzowa* und *Orloff*). Endlich liegen einige Arbeiten vor, in denen im Hinblick auf die Spezifität der Reaktion die Klarstellung einiger physiologischer (insbesondere endokrinologischer) und biologischer Probleme versucht wird (*Ssolowtzewa, Satina* und *Beakslee*).

Die chemische Seite der Reaktion ist bisher fast gar nicht untersucht worden. Eine Ausnahme bildet nur die Abhandlung von *W. I. Popow*, der in dieser Hinsicht den ersten wesentlichen Schritt getan hat. Der Autor der Reaktion teilt verschiedene Vorschriften mit, stellt aber kein Schema des Chemismus der Reaktion auf. Diese Unklarheit ruft einerseits eine große Willkür bei der Deutung der erhaltenen Ergebnisse hervor und läßt andererseits über die Bedeutung dieser Reaktion überhaupt Zweifel auftauchen.

Ausgehend von dem Wunsche, eine sichere chemische Begründung zu schaffen, auf Grund deren eine Bewertung der dieses Gebiet behandelnden Arbeiten möglich wäre, sahen wir uns veranlaßt, die Rolle der Reagenzien, welche für die Reaktion von *Manoilow* notwendig sind, sowie die ihres Chemismus und endlich ihrer Spezifität aufzuklären.

Methodik.

Von einigen Vorschriften *Manoilows* wählten wir diejenige aus, die er besonders empfiehlt, und die auch die größte Verbreitung gefunden hat. Da die Tropfenmethode den Anforderungen der quantitativen chemischen Analyse nicht genügt und *Popow* die große Bedeutung der Reagenzienmenge für den Ausfall der Reaktion erwiesen hat, wandten wir die Modifikation von *Popow* an, indem wir nur einige Details abänderten. In quantitativer Hinsicht wurden die von *Manoilow* vorgeschriebenen Verhältnisse vollkommen beibehalten.

Tabelle I.

Konzentration und Menge nach *Manoilow*		Reagenzien	Von uns angewandte Konzentration	Menge
1 Proz.	10 Tropfen	1. Papayotin	1 Proz.	0,5 ccm
1 „	3 „	2. Dahlia	1 „	0,1 „
1 „	10 „	3. Permanganat	0,1 n	variable Menge
40 „ (HCl = 10—13 Proz. nach dem Gewicht)	3 „	4. Salzsäure	5 Proz. (HCl nach dem Gewicht)	0,3 ccm
2 Proz.	5 „	5. Thiosinamin	2 Proz.	0,2 „

Die genannten Reagenzien werden nach *Manoilow* zu 3 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit hinzugefügt. Somit beträgt das Volumen nach Beendigung der Reaktion etwa 4,5 ccm. Um diese Verhältnisse auch bei Anwendung der schwächeren Permanganatlösung beizubehalten (n/10), nahmen wir 2 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit. Die Quantität der untersuchten Substanz wurde durch entsprechende Verdünnung reguliert.

Bei Entfärbung haben wir nach *Manoilow* die männliche Reaktion, im Falle der Violettfärbung die weibliche. Wir wandten für die quantitative Bewertung der Reaktion eine Permanganatmenge an, die zur Entfärbung der untersuchten Flüssigkeit unter den Bedingungen der *Manoilow*schen Reaktion erforderlich ist. Bei Mangel an Permanganat tritt eine Violettfärbung auf, bei Überschuß — eine Entfärbung, an der Grenze der Entfärbung — eine strohrosa Schattierung. Auf diese Weise stellte man mit jeder Flüssigkeit eine Versuchsserie an, um die für die Entfärbung notwendige Permanganatmenge zu ermitteln. In der Mehrzahl der Fälle kann sie mit einer Genauigkeit bis zu 0,05 ccm dezinormaler $KMnO_4$-Lösung bestimmt werden.

Rolle der für die Reaktion verwandten Reagenzien.

I. Papayotin.

Papayotin stellt ein pflanzliches Eiweißferment vor, welches aus dem Milchsafte des Carica papaya gewonnen wird. Die Besonderheit dieses Ferments ist seine schwache Wirkung bei Zimmer- und Brutschrank-

temperatur und seine Fähigkeit, bei einer Temperatur von 80 bis 90° C die Eiweißstoffe rasch zu spalten.

Seine Bedeutung erhellt aus folgenden Versuchen:

Erstens wurde die Fähigkeit des Papayotins, die Eiweißstoffe des Serums bei niedriger Temperatur zu spalten, geprüft.

Tabelle II.

Verdauung der Blutserumeiweißstoffe (nach *Sörensen*) mit Papayotin (2 ccm Serum + 0,5 ccm Papayotin; Temperatur +38° C; 20 Stunden).

	0,5 ccm zugefügt	0,1 n NaOH verbraucht ccm	Differenz ccm NaOH
Versuch 1	2 proz. Na_2CO_3	0,65	0
Kontrolle	„	0,65	
Versuch 2	H_2O	0,90	0,25
Kontrolle	„	0,65	
Versuch 3	3 proz. HCl	1,00	0,10
Kontrolle	H_2O	0,90	

Es erweist sich, daß sich selbst bei einer Temperatur von + 38° C und beim Stehenlassen während 20 Stunden nur eine sehr geringe Menge Amidstickstoff bildet.

Zweitens wurde mit ein und demselben Serum (2 ccm 10proz.) die Reaktion sofort und nach 20stündigem Stehen mit Papayotin im Thermostaten bei 38° C angestellt. Keine Differenz erhalten.

Drittens wurden parallele Bestimmungen mit Papayotin und ohne dasselbe ausgeführt. Dabei zeigte es sich, daß das Papayotin auf den Reaktionsverlauf nicht einwirkt. Sein Einfluß äußert sich nur darin, daß es selbst eine geringe Menge Permanganat verbraucht, und zwar filtriert 0,10 ccm, unfiltriert 0,15 ccm der n/10 Lösung. Somit ergeben alle drei Versuchsserien, daß das Papayotin für den Reaktionsverlauf nicht notwendig ist.

II. Farbstoff.

Der Farbstoff besitzt die Fähigkeit, im sauren Medium von Permanganat rasch oxydiert zu werden und sich dabei zu entfärben. In Gegenwart von Substanzen, die leichter als der Farbstoff oxydiert werden, kann eine geringe Permanganatmenge für die Entfärbung des Farbstoffs nicht ausreichen, und die untersuchte Flüssigkeit bleibt daher gefärbt. Verschiedene Farbstoffe brauchen für ihre Entfärbung eine verschiedene Menge Permanganat. Am deutlichsten läßt sich die Entfärbungsgrenze im Falle des Lichtgrüns feststellen, am schwierigsten beim Kristallviolett und besonders beim Malachitgrün.

Tabelle III.

Menge des n/10 $KMnO_4$, die für die Entfärbung unter den Bedingungen der *Manoilow*schen Reaktion notwendig ist.

Bezeichnung des Farbstoffs	Für den Farbstoff	Für den Farbstoff + Papayotin	Für den Farbstoff + Papayotin + 2 ccm 10 proz. Serums	Für 2 ccm 10 proz. Serums (berechnet)
Lichtgrün	0,05	0,15	0,95	0,80
Dahlia	0,40	0,50	1,50	1,00
Malachitgrün . .	0,45	0,55	1,60	1,05
Fuchsin	0,80	0,90	1,95	1,05
Kristallviolett . .	0,95	1,05	2,10	1,05

Bei dem Serum, das mit dem Farbstoff vermischt ist, ergibt sich die Gesamtmenge an Permanganat aus der für das Serum verbrauchten Quantität und der für den Farbstoff und das Papayotin angewandten Menge. Eine wahrnehmbare Abweichung tritt bei Lichtgrün auf, was wohl durch dessen leichte Oxydationsfähigkeit zu erklären ist.

Da alle früheren Arbeiten mit dem Farbstoff Dahlia ausgeführt worden sind, bedienten auch wir uns in den weiteren Versuchen nur desselben sowie des Papayotins.

III. Permanganat und IV. Salzsäure.

Wie aus dem Vorhergehenden ersichtlich ist, wird das Permanganat erstens für die Oxydation der leicht oxydierbaren Substanzen in der untersuchten Flüssigkeit, und zweitens des Farbstoffs verbraucht. Diese Reaktion geht nur in saurem Medium energisch vonstatten. Gleichzeitig während des Oxydationsprozesses fällt ein Teil des Permanganats in Form eines dunkelbraunen Niederschlags aus, welcher dem Mangansuperoxyd entspricht. Von der Natur des Niederschlags kann man sich leicht überzeugen, wenn man ihn abzentrifugiert, auswäscht, wieder zentrifugiert und auf diese Weise in reiner Form sammelt.

Alle unsere Bestimmungen sind so ausgeführt worden, daß die Reagenzien in der durch die Nummern bezeichneten Reihenfolge hinzugefügt wurden. Spezielle Versuche zeigten aber, daß die Reihenfolge des Zusatzes der ersten vier Reagenzien für den Reaktionsverlauf ohne Bedeutung ist.

V. Thiosinamin ($NH_2C:SNHC_3H_5$).

Von der Klarstellung der Bedeutung des Thiosinamins hing das endgültige Urteil über die Reaktion ab. An Hand verschiedener Methoden sind wir zu ein und demselben Resultat gekommen: Die Rolle des Thiosinamins besteht in der Reduktion des Mangansuperoxyds. Daher tritt erstens eine Aufhellung der Flüssigkeit ein, und zweitens hört die langsam verlaufende Reaktion zwischen dem Mangansuperoxyd und dem Farbstoff auf.

Als Beweis können folgende Versuche dienen:

1. Läßt man zwischen dem Hinzugießen des Thiosinamins und dem Zufügen der Salzsäure eine gewisse Zeit verstreichen, so wird die Entfärbung stärker sein. So wurden bei einer Frist von 10 Minuten für 2 ccm 10proz. Serums 1,40 ccm n/10 $KMnO_4$ verbraucht, dagegen bei sofortigem Hinzugießen 1,55 ccm.

2. Das sich bei der Reaktion bildende Mangansuperoxyd läßt sich abzentrifugieren, und man kann sich sodann davon überzeugen, daß es die Fähigkeit besitzt, Oxalsäure zu oxydieren, und ferner, daß das Thiosinamin imstande ist, es zu reduzieren, indem das Mangansuperoxyd in Lösung übergeführt und entfärbt wird.

3. Wir suchten dieselbe Frage auch auf elektrometrischem Wege zu lösen, indem wir eine Oxydations-Reduktionskette bildeten. Die Theorie und Praxis dieser Ketten ist ziemlich kompliziert und in ihren Einzelheiten wenig ausgearbeitet (*Tower, Förster, Clark, Kablukow*). Wir beschränken uns daher auf den Hinweis, daß, je größer die Neigung des oxydierenden Agens ist, Sauerstoff abzugeben, desto größer die positive Ladung der in die betreffende Lösung versenkten Platinplatte sein wird. Beim Hinzufügen des Thiosinamins zu einem Gemisch, das aus Permanganat, Säure, Farbstoff und Wasser besteht, kommt ein rasches Fallen des Potentials um 500 bis 600 Millivolt zustande, was auf die Reduktion des Permanganats und des Mangansuperoxyds hinweist, das sich bei Zusatz des Farbstoffs zum Permanganat in der sauren Lösung gebildet hat.

4. Endlich ersetzten wir das Thiosinamin durch andere reduzierende Substanzen. Es sind oxalsaures Natrium, Thioharnstoff, Hyposulfit, Rhodanammonium verwendet worden. Oxalsaures Natrium wirkt schwach und langsam. Für rasche Entfärbung sind große Acidität und hohe Temperatur notwendig. Der Thioharnstoff und das Hyposulfit stehen in ihrer Wirkung dem Thiosinamin nicht nur nicht nach, sondern sie übertreffen es, und können es mit Erfolg in der Reaktion ersetzen. Elektrometrisch erhält man dieselben Resultate. Oxalsaures Natrium erniedrigt selbst in großen Mengen das Potential langsam und unbeträchtlich. Thioharnstoff und Hyposulfit wirken momentan und stark.

Die den Chemismus der Reaktion betreffenden Angaben lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Als Grunderscheinung tritt in der Reaktion die Oxydation mit Permanganat auf. Sind in der untersuchten Flüssigkeit leicht oxydierbare Substanzen vorhanden, so werden sie zuerst und darauf erst der Farbstoff oxydiert. Gleichzeitig bildet sich eine gewisse Menge Mangansuperoxyd, das von dem Thiosinamin reduziert wird. Auf diese Weise wird der Sauerstoff des Permanganats:

1. durch leicht oxydierbare Substanzen der untersuchten Flüssigkeit,
2. durch den Farbstoff und
3. durch das Thiosinamin verbraucht.

Die Gesamtmenge des Permanganats und diejenige Menge, die für den Farbstoff notwendig ist, können wir bestimmen. Die für das Thiosinamin verbrauchte Menge ist uns unbekannt, somit ist auch

die für die leicht oxydierbaren Substanzen verbrauchte Menge unbekannt. Anders ausgedrückt, der Versuch, die Reaktion vollkommen quantitativ zu gestalten, stößt auf unüberwindliche Schwierigkeiten.

Spezifität der Reaktion.

Eine Hemmung der Entfärbung müssen alle Substanzen geben, die leichter als der Farbstoff oxydiert werden. In erster Linie gehören zu solchen Stoffen Thiosinamin, Thioharnstoff, Hyposulfit, Rhodanammonium und ähnliche Substanzen. Es geben gar keine Hemmung der Entfärbung: Lösungen des $NaCl$, KCl, $CaCl_2$, Gummiarabikum, Suspension des Neutralfettes in Wasser, Emulsion des Neutralfettes in neutraler Seife, Lösung der neutralen Seife. Eine schwache Hemmung geben: Stärke, Glucose, Formalin, oxalsaures Natrium, Glykokoll, Alanin, Cystin, Diketopiperazin, grobe Suspensionen dieser Aminosäuren, Suspensionen des Bimssteins, Monobutyrin; eine etwas stärkere: citronensaures Natrium, Lecithin, Gelatine, Kreatin. Die übrigen Substanzen, welche noch stärker die Entfärbung hemmen, sind in der Tabelle IV aufgeführt.

Tabelle IV.

	Menge n/10 $KMnO_4$ in ccm	
	auf 2 ccm Flüssigkeit	auf 1 g Trockensubstanz (berechnet)
Agar-Agar . . . 0,25 Proz.	0,15	30,0
Dialysiertes Hühnereiweiß . 0,44 „ feste Substanz	0,60	65
dasselbe . . . . 0,88 „ „ „	1,10	
Hämoglobin . . 0,11 „	0,15	—
„ . . 0,22 „	0,40	89
„ . . 0,45 „	0,80	
Phenol . . . . . 0,01 „	0,30	1500
Brenzkatechin . . 0,02 „	0,30	750
Adrenalin . . . . 0,05 „	0,70	700
Tyrosin . . . . . 0,01 „	0,25	1250
Serum des Hammelbluts . 10 „	1,00	—
dasselbe . . . . 5 „	0,45	—
„ . . . . 2,5 „	0,25	—
Kuhmilch . . . 10 „	0,45	—
Testicularflüssigkeit (nach *Krawkow*) . .	0,20	—
Ovarialflüssigkeit „ „ . .	0,05	—

Eine starke Hemmung geben Eiweißstoffe und Hämoglobin. Eine besonders starke das Phenol und die Reihe seiner Derivate. Die Hauptrolle scheinen einige bestimmte Gruppen der Eiweißstoffe zu spielen, nämlich Tyrosin, Tryptophan und Pyrrolderivate. Tyrosin

reduziert im freien Zustande enorme Mengen Permanganat. Tryptophan und Pyrrolderivate (Prolin, Oxyprolin) standen uns leider nicht zur Verfügung. Die direkte Titration einer Pyrrolsuspension zeigt dessen Fähigkeit, große Mengen Permanganat zu reduzieren. Nach der Einwirkung des Permanganats auf Eiweißstoffe unter den Bedingungen der *Manoilow*schen Reaktion (d. h. einfach im sauren Milieu) werden die qualitativen Reaktionen auf Tyrosin und Tryptophan negativ. Anders ausgedrückt, diese Gruppen verschwinden gänzlich. Gelatine, welche diese Aminosäuren nicht enthält, gibt eine geringe Entfärbungshemmung. Hämoglobin, das eine große Menge von Pyrrolkernen enthält, hat eine große Hemmung zur Folge.

Die in der Tabelle IV angeführten Substanzen zeigen eine deutliche Proportionalität zwischen der Menge (= Konzentration) der angewandten Substanz und der Menge Permanganat, die für die Entfärbung unter den Bedingungen der *Manoilow*schen Reaktion notwendig ist.

Wenden wir uns nun den biologischen Flüssigkeiten zu, so müssen wir die durch das Blutserum bedingte Hemmung fast gänzlich auf Rechnung der Eiweißstoffe setzen. In der Tat enthält 10proz. Serum 0,7 bis 0,8 Proz. Eiweißstoffe, dafür wird 1,00 ccm Permanganat verbraucht, dialysiertes Hühnereiweiß, das 0,88 Proz. Eiweißstoffe enthält, erfordert 1,10 ccm.

Nehmen wir weiter in der Kuhmilch 3,5 Proz. Eiweiß an, so erhalten wir, von den Zahlen für das Hühnereiweiß ausgehend, 0,45 ccm, welche Größe auch der unmittelbare Versuch ergibt. Bei Fällung der Eiweißstoffe des Serums mit 60proz. Alkohol wird genau so viel Permanganat verbraucht, wie auf das Reagens allein mit Alkohol.

Somit hängt im Falle des Blutes, des Serums und der Milch — der an Eiweiß reichen Flüssigkeiten — der Ausgang der Reaktion ausschließlich vom Eiweißgehalt ab.

Zum Schluß müssen wir noch folgendes bemerken.

Die Grenze der Reaktion von *Manoilow* ist ganz willkürlich festgesetzt, sie wird sich in Abhängigkeit von der Menge der hinzugefügten Säure verschieben. Weiter können wir nicht wissen, wieviel Sauerstoff für die Eiweißstoffe verbraucht worden ist, weil sich der Sauerstoff auf die Substanz (Eiweiß), den Farbstoff und das Thiosinamin verteilt. In dieser Hinsicht ist die unmittelbare Titration bei gegebener Acidität mit Permanganat bis zur Rosafärbung, die im Laufe einiger Sekunden nicht verschwindet, zweckmäßig. Eine derartige Titration des Serums (2 ccm 10proz.) zeigt, daß hierfür 0,85 ccm verbraucht werden, während unter den Bedingungen der *Manoilow*schen Reaktion rund 1,0 ccm erforderlich ist. Wir schließen bei dieser Reaktion eine fermentative Wirkung aus, weil hierbei ein sehr starkes oxydierendes Agens be-

teiligt ist, und weil die Reaktion in stark saurem Milieu, bei Zimmertemperatur und während einer sehr kurzen Zeitspanne zustande kommt. Aus dem Versuch mit dem Fermentgift HCN geht hervor, daß dessen Zusatz, der für die Hemmung der Oxydationsfermente erforderlich ist, den Verlauf der Reaktion nicht beeinflußt. Schließlich können wir im Gegensatz zu *Bernatzki* dem kolloidalen Mechanismus eine geringe Bedeutung zuschreiben. Darauf weisen auch die Versuche mit anderen Kolloiden, mit Stärke, Gummiarabikum, hin, ferner die direkte Titration der Eiweißflüssigkeiten mit Permanganat, dabei verläuft die Oxydation sowohl im alkalischen Medium (das Permanganat geht in das Salz der Mangansäure von grüner Farbe über), als auch in saurem ($KMnO_4$ entfärbt sich unter Bildung niederer Oxydationsstufen).

Schlußfolgerungen.

Auf Grund unserer Versuche kommen wir zu folgenden Schlüssen:

1. Der Mechanismus der Reaktion läßt sich in nachstehender Weise erklären. Das Permanganat oxydiert in saurem Medium den Farbstoff, wobei letzterer entfärbt wird. In Gegenwart von Substanzen, die leichter als der Farbstoff oxydiert werden, kann die Permanganatmenge nicht ausreichen, und die untersuchte Flüssigkeit wird gefärbt bleiben. Thiosinamin dient für die Reduktion des gleichzeitig sich bildenden Mangansuperoxyds. Papayotin ist für die Reaktion nicht notwendig.

2. Der Ausgang der Reaktion hängt ab von der Menge der untersuchten Substanz und von der Menge der gebrauchten Reagenzien. *Verändert man die Menge der leicht oxydierbaren Substanz oder des Farbstoffs oder des Permanganats, so kann man leicht mit einer und derselben Substanz sowohl die weibliche als auch die männliche Reaktion nach Belieben erhalten.*

3. Es existiert eine Reihe von Substanzen, welche leicht $KMnO_4$ reduzieren. Zu ihnen gehören: Thiosinamin, Thioharnstoff, Hyposulfit, Rhodanverbindungen, Phenol, eine Reihe seiner Derivate, Adrenalin, Tyrosin und Eiweiß.

4. Die genannten Verbindungen verbrauchen $KMnO_4$ im Verhältnis zur angewandten Substanz. Daher üben Stoffe, welche in der untersuchten Flüssigkeit nur in geringen Mengen vorkommen (wie z. B. Aminosäuren, Hormone im Blute), auf den Ausgang der Reaktion keinerlei Einfluß aus.

5. Die Eiweißstoffe verbrauchen Permanganat hauptsächlich infolge ihres Gehaltes an Tyrosin-, Tryptophan- und wohl auch an Pyrrolgruppen.

6. Eine Reihe anderer organischer Verbindungen verbraucht ebenfalls $KMnO_4$ unter den Bedingungen der *Manoilow*schen Reaktion,

aber bedeutend schwächer. Mit anderen Worten, die Reaktion ist nicht spezifisch.

7. Bei Prüfung eiweißreicher, biologischer Flüssigkeiten, wie z. B. Blut, Blutserum, Milch usw., ist die Reaktion fast ausschließlich durch den Eiweißgehalt bedingt.

8. Die Schlußfolgerungen aller derjenigen Autoren, die eine Spezifität der Reaktion angenommen, aber nicht die Eiweißmengen in den untersuchten Objekten in Betracht gezogen haben, sind einer strengen Kritik zu unterziehen.

Literatur.

1) *Manoilow*, Wratschebnaja Gaseta 1923, Nr. 15, S. 345. — 2) *Derselbe*, ebendaselbst 1923, Nr. 21/22, S. 453. — 3) *Egorow*, ebendaselbst 1923, Nr. 24, S. 516. — 4) *Manoilow*, ebendaselbst 1924, Nr. 1, S. 15. — 5) *Grünberg*, ebendaselbst 1924, Nr. 5, S. 108. — 6) *Schtscheglowa*, ebendaselbst 1924, Nr. 5, S. 108. — 7) *Issaewa*, ebendaselbst 1924, Nr. 13/14, S. 305. — 8) *Bernatzki*, ebendaselbst 1924, Nr. 18, S. 401. — 9) *Manoilow*, Münch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 51. — 10) *Ssolowtzowa*, Wratschebnaja Gaseta 1925, Nr. 20, S. 462. — 11) *Popow*, Münch. med. Wochenschr. 1925, Nr. 50. — 12) *Derselbe*, Verhandlungen des VIII. allrussischen Therapeutenkongresses 1925. — 13) *Lifschitz*, Journ. dlja ussowerschenstwowanja wratschej 1926, Nr. 1. — 14) *Popow*, ebendaselbst 1926, Nr. 1. — 15) *Satina* und *Beakslee*, Proc. of Nat. Acad. of Sciences 1926. — 16) *Ssolowtzowa* und *Okuneff*, Vortrag in der Sitzung der Endokrinol. Gesellschaft am 17. April 1926. — 17) *Ssolowtzowa* und *Orloff*, ebendaselbst am 21. Mai 1926. — 18) *Kusnetzow*, Vortrag auf dem 2. Allruss. Physiologischen Kongreß am 26. Mai 1926. — 19) *Kabloukoff*, Grundr. d. physik. Chem. T. II, Elektrochem. 1922. — 20) *Tower*, Zeitschr. f. physik. Chem. 18, 17, 1895.

Physiologisch-chemische Begründung der Manoilowschen Reaktion.

Von

A. A. Schmidt und **N. O. Perewosskaja.**

(Aus dem Obuchower Netschaeffschen Krankenhause.)

(Eingegangen am 7. Juli 1926.)

Im Jahre 1923 hat *M. E. Manoilow* (1) (7) eine chemische Reaktion für die Unterscheidung des männlichen Blutes vom weiblichen ermittelt.

Bei der Ausarbeitung dieser Reaktion ging der Autor von folgendem Gedanken aus: da die Geschlechtsdrüsen eine so große Bedeutung für den Haushalt des männlichen und weiblichen Organismus, als eines geschlechtlichen Individuums, besitzen, so ist es kaum anzunehmen, daß die Geschlechtsdrüsen ohne jeden Einfluß auf die chemische Blutzusammensetzung sind. Auf die Besonderheiten dieses Geschlechtsunterschieds geht der Autor indes nicht ein und spricht in seiner ersten Arbeit vom Sexualhormon, das hauptsächlich nicht im Serum, sondern in den Erythrocyten enthalten sei (1). Einige Monate später freilich erscheint seine dritte Arbeit (2), in der *Manoilow* erklärt, er habe nicht daran gedacht, das Sexualhormon im Blute zu suchen, sondern er sei bestrebt gewesen, eine Methode „praktischen Charakters" für die Unterscheidung des „M"-Blutes vom „W"-Blute aufzufinden.

Auf die Abhandlung von *Manoilow* folgten eine Reihe von Mitteilungen, die in den Hauptzügen seine Entdeckung bestätigten. Es muß jedoch bemerkt werden, daß *Egorow* (3) in seinem ersten, nach der Mitteilung von *Manoilow* erschienenen Aufsatz dessen Angaben nicht bestätigen konnte. Wichtig ist, daß *Egorow* als erster darauf hingewiesen hat, daß die Reaktion keineswegs für dieses oder jenes Geschlecht spezifisch erscheint und nur von der Konzentration des verwendeten Blutes abhängt. *Manoilow* bemängelt in seiner dritten Mitteilung, *Egorow* habe sich nicht genau an die Methodik gehalten, so hätte er hämolysiertes Blut anstatt einer Emulsion desselben in physiologischer Lösung angewandt.

Nach unserer Ansicht ist die letzte Ursache kaum so wesentlich für die vorliegende Reaktion. Auf Grund unserer Untersuchungen können wir zurzeit behaupten, daß *Egorow* als erster darauf hingewiesen hat, die von *Manoilow* aufgefundene Reaktion habe nichts mit dem Geschlechtshormon zu tun. Er hätte die Methodik nur etwas abzuändern brauchen, um die wirkliche Ursache der Reaktion zu finden.

Gehen wir zum Wesen der Reaktion über.

Zu 3 bis 10 Proz. Blutemulsion werden folgende Reagenzien hinzugefügt: 10 Tropfen 1 proz. Papayotins, 2 bis 3 Tropfen der 1 proz. alkoholi-

schen Dahlialösung, 10 Tropfen 1proz. Permanganatlösung, 3 Tropfen 10- bis 12proz. Salzsäure und 5 Tropfen 2proz. Thiosinamins. Dazwischen wird das Reagenzgläschen etwas geschüttelt. Beim männlichen Blute kommt eine Entfärbung der vermischten Lösungen zustande, im Falle des weiblichen Blutes erhält der Inhalt des Reagenzglases eine blauviolette Färbung (1).

Die Emulsion des Blutes wird derart bereitet, daß sie „halbdurchsichtig" im passierenden Lichte ist. Das geschieht, damit das untersuchte Blut in allen Fällen eine gleiche Hämoglobinmenge enthält. Fällt das Resultat der Reaktion nicht ganz deutlich aus oder entspricht es nicht dem wirklichen Geschlecht, so muß man der Korrektion halber noch einige Tropfen dieses oder jenes Reaktivs hinzufügen. Nach dieser Korrektion gelang es dem Autor und der Mehrzahl der Forscher, die mit dieser Methodik gearbeitet haben, richtige Resultate in 80 bis 90 Proz. aller Fälle zu erhalten.

Es muß noch einiges über die Methodik der Ausführung der Reaktion selbst gesagt werden. *Manoilow* behauptet in einer seiner Mitteilungen, „es sei mit seiner Reaktion schwieriger, genau zu arbeiten und erfordere mehr Erfahrung und Übung als im Falle der *Wassermann*schen Reaktion". Wir wollen hier nicht die Behauptung, im Sinne der Schwierigkeit nach der Methode von *Manoilow* oder *Wassermann* zu arbeiten, bestreiten, aber hinsichtlich der Genauigkeit der Arbeitsmethodik läßt natürlich das Verfahren von *Manoilow* recht viel im Vergleich mit der *Wassermann*schen Methode zu wünschen übrig. Wir wollen nur auf einen Umstand hinweisen: nach Ausführung verschiedener Manipulationen mit dem untersuchten Blute standardisiert *Manoilow* dasselbe auf „Halbdurchsichtigkeit" im passierenden Licht; beim Hinzufügen des Reagens verwendet er zur Abmessung die Tropfenmethode. Zurzeit wenden die Biologen und Chemiker bei Ausführung genauer Versuche und Analysen für Volumenmessungen nicht die grobe und wenig genaue Tropfenmethode an, sondern genau graduierte Pipetten. Diese Methodik hat auch *Wassermann* für seine Reaktion angewendet.

Nach der Darstellung der Methodik in allgemeinen Zügen müssen wir einige Worte über den Chemismus der Reaktion sagen. Dem Chemismus haben weder *Manoilow* noch seine Nachfolger Beachtung geschenkt, als ob demselben kein Interesse beizulegen sei. Aber der ganze Sinn und Wert der *Manoilow*schen Reaktion liegt eben in jenen chemischen Umsetzungen, die bei der Vermischung der oben erwähnten Blutlösungen und Reagenzien statthaben.

Der Chemismus der Reaktion ist eingehend in der vorangehenden Arbeit[1]) besprochen worden. Im folgenden entsteht uns die Aufgabe, den Chemismus insoweit darzustellen, als es für das richtige Verständnis

[1]) *M. J. Galwialo, G. E. Wladimirow, A. P. Winogradow, W. W. Oppel*, „Zur Frage nach dem Chemismus der *Manoilow*schen Reaktion und ihrer Spezifität". Diese Zeitschr. **176**, 189, 1926.

und für die Deutung der an Hand der *Manoilow*schen Reaktion erzielten Ergebnisse notwendig ist.

Der Dahliafarbstoff wird in saurem Medium durch das Permanganat oxydiert und gleichzeitig zerstört. Dabei tritt eine ganze Reihe unvollständiger Reduktionsprodukte des Permanganats auf, die der Flüssigkeit eine bräunliche Schattierung verleihen. Zur endgültigen Reduktion dieser Produkte wird eben das Thiosinamin hinzugefügt. Hat das Permanganat für die vollständige Oxydation des Farbstoffs nicht ausgereicht, so erhält die Flüssigkeit eine mehr oder minder intensive blauviolette Färbung. Somit ist die Entfärbung oder das Aufrechterhalten der Färbung (nach *Manoilow* die männliche oder weibliche Reaktion) eigentlich nur von der größeren oder geringeren Menge Permanganat abhängig, die sich im vorliegenden Medium bei gleicher Menge des Dahliafarbstoffs vorfindet. Fügt man die Reagenzien in ganz gleichen Quantitäten zum Blute hinzu, so wird das Permanganat gleichzeitig die organischen Substanzen des Blutes, den Dahliafarbstoff und das Thiosinamin oxydieren. In denjenigen Fällen, in welchen sich im Blute mehr organische Substanzen befinden, wird mehr Permanganat für deren Oxydation verbraucht, für die Farbstoffoxydation wird zu wenig übrigbleiben, der Farbstoff wird daher nicht entfärbt werden und das Gemisch wird die blauviolette Färbung beibehalten.

Nachdem *Manoilow* von seiner ursprünglichen Absicht, das Geschlechtshormon im Blute zu entdecken, abgekommen ist, hält er für die Ursache der Reaktion irgend eine X-Substanz, die sich in verschiedenen Konzentrationen im Blute des Mannes und des Weibes befindet. Die übrigen Forscher erteilen dieser Substanz die verschiedenste Gestalt zu.

Ssolowtzowa (4) sieht die Ursache der Reaktion im Geschlechtshormon und in den verschiedenen Kalium- und Calciummengen im Blute des Mannes und Weibes. Eine Bestätigung des hormonalen und Elektrolytcharakters der Reaktion will die Verfasserin darin sehen, daß die Homosexuellen eine ihrem Geschlecht entgegengesetzte *Manoilow*sche Reaktion geben. Dabei schwankt die Menge des Calciums im Blute der Homosexuellen zwischen 7 und 27 mg auf 100 ccm Serum. Natürlich dürfen derartige Angaben nicht als Begründung dienen, da sie nicht der wirklichen $Ca^{"}$-Quantität im Blute entsprechen, überdies ist die Annahme, die Homosexuellen hätten ein eigenes Calciumniveau im Blute, völlig unphysiologisch.

Lifschitz (6) findet eine Erklärung für die Reaktion in der verschiedenen Wasserstoffionenkonzentration im Blute des Mannes und Weibes, aber sie führt wiederum solche Angaben für die p_H des Blutes an, daß man sie nicht als der Wirklichkeit entsprechend betrachten kann. Der Fehler liegt wohl in der ungenauen (kolorimetrischen) Methodik der p_H-Bestimmung des Blutes.

Vom physiologisch-chemischen Gesichtspunkt aus halten die erwähnten Arbeiten, oder richtiger die Voraussetzungen, auf die sie sich stützen, keiner Kritik stand; sie bezeugen nur die oberflächliche Kenntnis der Autoren von der Physiologie und Chemie der Hormone einerseits und der chemischen Zusammensetzung des Blutes andererseits.

Neuerdings sind chemische Reaktionen auf solche Hormone wie Adrenalin, Thyroxin und Insulin bekannt. Alle diese Reaktionen erhält man nur mit chemisch rein abgeschiedenen Hormonen, und zwar in

derartigen Konzentrationen, welche die im zirkulierenden Blute angenommenen Hormonkonzentrationen vielleicht um einige hundert- oder tausendmal übertreffen. Daß die *Manoilow*sche Reaktion darauf Anspruch erheben könnte, zu den hormonalen Reaktionen zu zählen, davon kann keine Rede sein: die angewandten Reagenzien sind viel zu grob, als daß mit ihrer Hilfe im Blute jene ephemere Substanz entdeckt werden könnte, die man als „Sexualhormon" bezeichnen könnte. Für die Reaktion wird eine 1proz. Lösung des Permanganats verwendet, eine Substanz, die in der Chemie als eines der energischsten Oxydationsmittel gilt. Im Verlaufe der Reaktion würde das Hormon unter dem Einfluß eines solchen Oxydationsmittels augenblicklich zerstört werden, ehe es seine charakteristische Wirkung hätte äußern können.

Nach Abschluß des experimentellen Teiles unserer Untersuchung über die *Manoilow*sche Reaktion erhielten wir Kenntnis von der gerade veröffentlichten Mitteilung *Calistos* (8). Er suchte mit Hilfe dieser Reaktion die Unterscheidung des Geschlechts im Blute von Meerschweinchen festzustellen. *Calisto* kommt zu dem Schluß, daß, trotz der strengen Innehaltung der *Manoilow*schen Methodik und der Anwendung zweifellos chemisch reiner Reagenzien, die Reaktion für die Geschlechtsbestimmung bei Meerschweinchen nicht geeignet ist. Für unsere Untersuchungen wichtig und besonders wertvoll ist, daß der Autor beim Arbeiten mit Plasma eine Entfärbung da erhielt, wo das Gesamtblut eine Färbung gab. Diese Tatsache ist *Calisto* natürlich geneigt, nicht durch das Vorhandensein des „männlichen" Hormons im Plasma und im Vollblute des „weiblichen" Hormons zu erklären, sondern einzig und allein dadurch, daß das Vollblut an organischen Substanzen reicher ist, welche die Erhaltung des Dahliafarbstoffs fördern.

Zu Beginn unserer Untersuchung über den Chemismus der *Manoilow*schen Reaktion mußten wir uns selbstredend von ihrer Spezifität überzeugen.

Zu diesem Zwecke nahmen wir das Vollblut gesunder Männer und Frauen. Es sind etwa 30 Blutproben untersucht worden. Das Zusammenfallen der Reaktion mit dem Geschlechte erhielten wir in nicht mehr als 50 bis 60 Proz. der untersuchten Fälle.

Beim Arbeiten mit Normalblut von Kaninchen, Schafböcken und Schafen erhielten wir eine Übereinstimmung in 90 bis 95 Proz., aber sobald die Kaninchenweibchen oder die Schafe trächtig wurden, begannen sie in der Regel die „männliche" Reaktion zu geben.

Für das vollständige und umfassende Studium der Reaktion verwendeten wir anfangs ausschließlich das Blut vom Schafbock und dem Schafe. Vor der Analyse wurde das Vollblut stets auf seine Spezifität geprüft, d. h. wir nahmen nur das Blut, das entweder die charakteristische „männliche" oder die charakteristische „weibliche" Reaktion gab.

Es war wichtig, festzustellen, von welchem Bestandteil des Vollbluts die Hemmung der Entfärbung des Dahliafarbstoffs abhängt. Um diese Frage zu lösen, untersuchten wir einzeln das Serum und die Formelemente. Das Serum und die Formelemente erhielten wir gesondert durch Zentrifugieren des mittels Venäpunktion frisch gesammelten und defibrinierten Blutes.

Wir gebrauchten 10proz. Serumlösung und 3, 5 und 10 Proz. Emulsionen der Formelemente. Dabei nahmen wir die letzteren sowohl nicht ausgewaschen als auch mehrere Male mit physiologischer Lösung ausgespült.

Die 10proz. Lösung des Schafbockes gab stets mit den *Manoilow*schen Reagenzien eine Entfärbung, und dieselbe Lösung des Schafserums wurde schön blauviolett gefärbt. Man muß aber vermerken, daß einerseits 12- bis 15proz. Schafbockserumlösung gewöhnlich auch eine charakteristische „weibliche" Reaktion gab, d. h. nicht entfärbt wurde, und andererseits wurde eine 5- bis 8proz. Schafserumlösung stets entfärbt, d. h. sie gab eine „männliche" Reaktion.

Eine 3proz. Emulsion der Formelemente gab eine vollständige Entfärbung, 5- und 10proz. Emulsionen färbten sich braunviolett; dabei beobachteten wir keinen Unterschied zwischen dem Schafbock- und Schafblut in der Intensität der Färbung.

Auf Grund dieser Versuche sind wir zu dem Schluß gekommen, daß sich die die *Manoilow*sche Reaktion bedingende Substanz im Serum befindet und mit den Formelementen nicht verbunden ist. Daher haben wir beim weiteren Studium ausschließlich Versuche mit Serum unternommen. Wenn sich die die Reaktion bedingende „weibliche" Substanz im Serum befindet, so bestand unsere nächste Aufgabe darin, diese Substanz aus dem Serum zu entfernen, und nach Möglichkeit dieselbe in irgend einer Weise zu isolieren, um alsdann die *Manoilow*sche Reaktion anzustellen.

Manoilow (1) gibt an, daß das inaktivierte „weibliche" Serum die charakteristische Reaktion zu geben aufhört. Zur Nachprüfung nahmen wir Schafserum und erwärmten es im Laufe von 30 Minuten im Wasserbad bei 56 bis 60° C. Aus diesem inaktivierten Serum bereiteten wir eine 10proz. Lösung und stellten sodann die Reaktion an. Es kam eine deutlich ausgeprägte „weibliche" Reaktion zustande, welche in ihrer Intensität durchaus nicht der mit demselben Serum vor dem Erwärmen erhaltenen Reaktion nachstand. Daraus geht hervor, daß die Inaktivierung das Serum nicht derjenigen Eigenschaften beraubt, welche die Hemmung der Entfärbung des Dahliafarbstoffs bedingen.

Da es uns durch Erwärmen nicht gelang, das Serum seiner spezifischen Eigenschaften zu berauben, entschlossen wir uns, die Dialysationsmethode anzuwenden. Als Dialysator benutzten wir Hülsen, welche aus 4proz. Kollodiumlösung bereitet waren, und einfache Pergamentmembranen, die um den Dialysationszylinder gespannt wurden. Für die Dialyse des Serums nahmen wir 25 bis 30 ccm, und stellten den Dialysator in destilliertes Wasser ein, das dem Volumen nach die 10- bis 15fache Menge des angewandten Materials enthielt. Die Dialyse dauerte 8 bis 10 Stunden bei Zimmertemperatur — 16°. Dabei wurde alle 2 Stunden die Außenflüssigkeit durch eine neue Portion destillierten Wassers ersetzt, und mit dem Hülseninhalt

die Reaktion von *Manoilow* ausgeführt. Die während der Dialyse gesammelten drei oder vier Portionen des Dialysats wurden in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad bei einer Temperatur von 50 bis 60° C eingedampft. Der erhaltene Trockenrückstand wurde in 10 ccm destillierten Wassers aufgenommen und mit ihm die *Manoilow*sche Reaktion ausgeführt. In allen Fällen erhielt man eine vollständige Entfärbung der Reagenzien.

Was den Inhalt der Hülse anbelangt, so entdeckten wir, daß von der zweiten Stunde des Dialysierens an das Serum eine schwächere Reaktion zu geben begann als vor der Dialyse, aber wie lange wir auch die Dialyse fortsetzten, so gelang es uns doch nicht, ein vollständiges Verschwinden der Reaktion zu erzielen. Wenn nach dem Verlauf von 8 Stunden und in einigen Versuchen selbst nach 12 bis 16 Stunden das 10proz. Serum aus dem Dialysator keine Reaktion mehr gab, genügte es, um die Reaktion zu erhalten, nur eine 15- oder 20proz. Lösung des Hülseninhalts anzuwenden.

Somit überzeugten uns die Dialysationsversuche davon, daß die die Färbung bedingende Substanz die Kollodium- oder Pergamentmembran zu passieren nicht imstande ist. Der Umstand, daß das Serum dennoch bei der Dialyse an Reaktionsintensität einbüßt, ist dadurch zu erklären, daß es durch das nach den Gesetzen der Osmose von außen in das Dialysatorinnere eintretende Wasser verdünnt wird.

Die Angaben *Manoilows* selbst über die Frage nach der Dialyse stimmen mit unseren Angaben nicht überein. *Manoilow* (2) erhielt nach 48 stündiger Dialyse des weiblichen Blutes mit Papayotin im Dialysat eine schwach ausgeprägte weibliche Reaktion. Aber aus der letzten Tatsache kann man unmöglich den Schluß ziehen, daß irgend eine spezifische Substanz, die nur im weiblichen Blute enthalten ist, vorliegt, allein aus dem Grunde, weil das Blut sehr lange dialysiert wurde und überdies in Gegenwart eines proteolytischen Ferments — des Papayotins. Im Verlaufe von 48 Stunden konnten sich unter dem Einfluß des Papayotins Eiweißzerfallsprodukte bilden, welche eben im Dialysat die weibliche Reaktion bedingten.

Aus dem eben Dargestellten leuchtet ein, daß man weder durch Inaktivierung, noch durch Dialyse dem Schafserum seine spezifische Eigenschaft, die Dahliafarbstoffentfärbung zu hemmen, rauben kann. Es ist klar, daß diese Eigenschaft an irgend eine Substanz gebunden ist, die auf diesem Wege weder zerstört noch entfernt werden kann. Da wir während der ganzen Zeit ausschließlich mit Schafbock- und Schafserum arbeiteten, entschlossen wir uns, auch Sera anderer Tiere zu untersuchen. Zufällig erhielten wir in großer Quantität das Serum eines Katers.

Nachdem wir eine 10proz. Lösung bereitet hatten, erhielten wir eine äußerst charakteristische, ja noch typischere weibliche Reaktion als mit dem Serum des Schafes. Um klarzustellen, um was es sich hier handelt, untersuchten wir dies Serum eingehender. Unter anderem fanden wir, daß sein spezifisches Gewicht äußerst hoch, nämlich 1,0306 ist. Bei dieser Gelegenheit bestimmten wir auch das spezifische Gewicht des Schafbock- und Schafserums, wir erhielten für den Schafbock den Wert 1,0253 und für das Schafserum 1,0286.

Dieser Umstand, sowie die Tatsache, daß das männliche Serum bei größerer Konzentration stets gleichfalls die weibliche Reaktion gibt, brachte uns auf den Gedanken, *daß die weibliche Reaktion nach Manoilow von der größeren Menge organischer Substanzen im weiblichen Blute abhängt.*

Unsere weiteren Untersuchungen über die vorliegende Frage erstreckten sich auf die Sammlung von Tatsachenmaterial, das unsere Annahme bestätigte. Bevor wir jedoch zur Darstellung unseres Materials übergehen, müssen wir noch einmal auf die Methodik der Ausführung der Reaktion zurückkommen.

Wie schon oben erwähnt, bedurfte die Methodik von *Manoilow* einer genaueren Ausgestaltung, hauptsächlich mußte die Tropfenmethode durch sehr genaue volumetrische Messungen mit graduierten Pipetten ersetzt werden. Der Aufgabe, die Methodik zu vervollkommnen und zum Teil den Chemismus der Reaktion aufzuklären, hat sich *Popow* (9) unterzogen. Die von *Popow* in die Reaktion eingeführten Veränderungen bestehen in folgendem. Die für die Reaktion benötigten Reagenzien werden mit auf $^1/_{100}$ ccm geeichten Pipetten abgemessen. Die Blutemulsion wird nicht „halbdurchsichtig" bereitet, sondern derart, daß sie in allen Fällen die gleiche Hämoglobinmenge enthält. Das letztere wird durch Anwendung eines Hämoglobinometers bei der Standardisierung des untersuchten Blutes erreicht. Wendet man dieses Verfahren an, so enthält die Emulsion stets die gleiche Menge Hämoglobin, unabhängig davon, ob das Blut von einem vollblütigen oder einem anämischen Objekt stammt.

Die wesentlichste, von *Popow* vorgeschlagene Vervollkommnung besteht in der quantitativen Titration des untersuchten Blutes mit Kaliumpermanganat. *Popow* unterscheidet das männliche Blut nicht nach der Entfärbung oder Färbung des mit den *Manoilow*schen Reagenzien vermischten Blutes, sondern nach der Menge des für die völlige Entfärbung des Dahliafarbstoffs verbrauchten Permanganats. Es erwies sich, daß für das weibliche Blut in der Mehrzahl der Fälle mehr Permanganat notwendig ist als für das männliche.

Hierbei muß man auch bemerken, daß *Popow* durch Einführung der exakten quantitativen Messung des verbrauchten Permanganats die Reaktion derart gestaltete, daß sie für die quantitative Bestimmung der oxydablen Stoffe im Blute benutzt werden kann.

Beim weiteren Studium der Sera wandten wir die Reaktion von *Manoilow* in der Modifikation von *Popow* in folgender Weise an:

Aus dem Serum wird eine 10proz. Lösung in destilliertem Wasser hergestellt. In fünf Reagenzgläschen von gleicher Größe gibt man je 2 ccm der Serumlösung. In jedes Gläschen fügt man nun 0,5 ccm 1proz. Papayotin und 0,2 ccm 0,5proz. alkoholischer Dahlialösung hinzu, sodann wird in jedes Reagenzröhrchen in zunehmender Quantität von 0,9 bis 1,3 ccm n/10 Kaliumpermanganat hinzugegeben; erhielt das erste Gläschen 0,9 ccm, so bekommt das nächste 0,1 ccm mehr usw. Endlich wird in jedes Gläschen 0,3 ccm 5proz. Salzsäure und 0,2 ccm 1proz. Thiosinaminlösung hinzugegossen. Nach dem Zusatz jedes Reaktivs wird das Reagenzgläschen etwas umgeschüttelt, damit sich der Inhalt gleichmäßig vermischt.

Als Schluß der Reaktion betrachtet man dasjenige Reagenzglas, in welchem zuerst die vollständige Entfärbung der vermischten Lösungen zustande gekommen ist. Man notiert die Menge Permanganat, die für das betreffende Reagenzgläschen verbraucht worden ist. Durch einen Kontrollversuch wird die Menge Permanganat festgestellt, welche für die Entfärbung der angewandten Reagenzien ohne Serum notwendig ist. Dazu wird in eine Reihe von Reagenzgläschen statt der Serumlösung 2 ccm destillierten Wassers gegossen und die eben angeführten Reagenzien in den erwähnten Mengenverhältnissen. Von der Permanganatmenge, die bei der Titration des Serums verbraucht worden ist, subtrahiert man den für die erste Entfärbung im Kontrollversuch erhaltenen Wert. Die Differenz zeigt an, wieviel Permanganat zur Oxydation der 2 ccm 10proz. Serums in dem System „Serum + Dahlia + Thiosinamin" erforderlich waren. Dieser Permanganatwert kann als mehr oder minder genaues Maß der Oxydierbarkeit des angewandten Serums dienen.

Wie die Menge Permanganat, die für die Oxydation des Serums notwendig ist, bestimmt wird, ist aus folgendem Versuch ersichtlich.

Das Blutserum des untersuchten M. I. R. ist genommen. Die aus dem Serum bereitete 10proz. Lösung wird in fünf Reagenzgläschen zu 2 ccm gegossen. Nach dem Hinzufügen der *Manoilow*schen Reagenzien und der Titration mit n/10 Permanganat nach *Popow* erwies es sich, daß völlige Entfärbung im vierten Reagenzglase erfolgte, für das bei der Titration 1,2 ccm Permanganat verbraucht worden war. Durch Kontrolle wurde ermittelt, daß für die vollständige Entfärbung der Reagenzien allein ohne Serum 0,25 ccm Permanganat notwendig waren. Hieraus geht hervor, daß für die Oxydation von 2 ccm 10proz. Serums 0,95 ccm n/10 Kaliumpermanganat verwendet wurden. Um die Sera miteinander bequem vergleichen zu können, bestimmt man mühelos durch einfache arithmetische Berechnung, wieviel Kubikzentimeter n/10 Permanganat für die Oxydation von 100 ccm Vollserum gebraucht werden. Für das Serum im angeführten Versuch beträgt diese Größe $\frac{0{,}95}{2} \times 10 \times 100 = 475$ ccm.

Nach Besprechung der Methodik gehen wir zur Darstellung unseres Materials über, das 29 männliche, 25 weibliche und 12 Kaninchensera umfaßt. Die untersuchten Männer und Frauen waren in klinischer Hinsicht ohne Befund und im Alter von 24 bis 40 Jahren. Das Blut entnahm man den Untersuchten frühmorgens im nüchternen Zustande mit einer Spritze aus einer Cubitalvene. Das in die Spritze aufgesaugte Blut (10 bis 12 ccm) wurde in ein reines Reagenzglas gebracht und zwecks schnellerer Gerinnung auf 20 bis 30 Minuten in den Thermostaten gestellt. Darauf wurde es zum besseren Absitzen des Serums auf 10 bis 15 Stunden in Eis gestellt. Auf diese Weise gelang es, aus 10 ccm Blut 4 bis 5 ccm durchsichtigen, nicht hämolysierten Serums zu gewinnen.

Bei Kaninchen gewann man das Blut aus einem Schnitt der Randvene am sorgfältig abrasierten Ohr. Nach Abreibung des Ohrs mit einem ätherdurchtränkten Wattebausch tritt für gewöhnlich eine starke Hyperämie der Gefäße ein und das Blut fließt in raschen Tropfen in das daruntergestellte reine Reagenzglas. Ohne besondere Mühe gelingt es auf diese Weise, in das Gläschen 8 bis 10 ccm Blut zu sammeln. Im weiteren verfuhren wir mit dem Kaninchenblut ebenso wie mit dem menschlichen.

Das nach dem Stehenlassen des Blutes in Eis gewonnene Serum wurde in dreifacher Weise untersucht.

Erstens wurde das spezifische Gewicht pyknometrisch bestimmt. Dazu bedienten wir uns eines kleinen Pyknometers von 3 ccm Volumen. Die Wägung erfolgte auf einer genauen analytischen Wage, das Gewicht des Serums und des Wassers wurde mit einer Genauigkeit bis zu 0,1 mg bestimmt. Das spezifische Gewicht wurde aus dem Verhältnis des Serumgewichts zum Gewicht des destillierten Wassers bis zur vierten Dezimalstelle genau berechnet.

Zweitens wurde die Eiweißmenge nach dem Gesamtstickstoffgehalt des Serums berechnet, der nach *Kjeldahl* ermittelt wurde. Freilich ließen wir hierbei einen kleinen Fehler von 3 bis 4 Proz. im Sinne der Erhöhung der Gesamtmenge der Eiweißstoffe zu, da der Reststickstoff nicht beachtet wurde, der im Serum immer in einer Menge von 0,025 bis 0,035 Proz. vorliegt. Da sich aber dieser Fehler in allen Versuchen wiederholt, so ist er für die Genauigkeit der endgültigen Resultate ohne jedwede Bedeutung.

Endlich bestimmten wir für jedes Serum nach *Manoilow-Popow* die Menge n/10 Permanganat, die für die Oxydation von 100 ccm Serum notwendig ist.

Unsere Übersicht beginnen wir mit dem spezifischen Gewicht der Sera der untersuchten Menschen. In Tabelle I sind die spezifischen Gewichte und die Anzahl der untersuchten Sera bei Männern und Frauen zusammengestellt. Bei der Durchsicht der Tabelle sehen wir, daß das spezifische Gewicht der männlichen Sera mit 1,0240 beginnt und zwischen 1,0280 und 1,0290 endigt; das Maximum, 31 bis 41 Proz., wird von 29 untersuchten Sera mit dem spezifischen Gewicht 1,0250 bis 1,0270 erreicht. Das spezifische Gewicht der weiblichen Sera beginnt zwischen 1,0250 und 1,0260, das Maximum, 24 bis 28 Proz., wird von 25 untersuchten Sera mit dem spezifischen Gewicht 1,0280 bis 1,0290 erreicht; der Endwert liegt bei der verhältnismäßig hohen Zahl 1,0310.

Tabelle I.

Spezifisches Gewicht des Serums	Männer	Frauen
	Anzahl der untersuchten Sera	
1,0240—1,0250	5 (17 Proz.)	0
1,0250—1,0260	12 (42 „)	4 (16 Proz.)
1,0260—1,0270	9 (31 „)	5 (20 „)
1,0270—1,0280	0	6 (24 „)
1,0280—1,0290	3 (10 „)	7 (28 „)
1,0290—1,0300	0	0
1,0300—1,0310	0	3 (12 „)
	29	25

Aus den angeführten Daten geht hervor, daß das spezifische Gewicht der männlichen Sera kleiner ist als das der weiblichen. Nun entsteht die Frage, von welchen Faktoren das höhere spezifische Gewicht des weiblichen Serums abhängt. Zieht man die chemische Zusammensetzung des Serums in Betracht, so muß man in erster Linie an die Eiweißstoffe denken. In der Tabelle II finden wir die Mittelwerte für Eiweiß in Prozenten und die durchschnittliche Menge n/10 Permanganat, die für die Titration von 100 ccm Serum verbraucht wird. Die angeführten Zahlen sind die durchschnittlichen arithmetischen Werte, die bei der vollständigen Untersuchung der 54 Sera nach dem vorstehenden Plan erhalten sind.

Tabelle II.

Spezifisches Gewicht des Serums	Männer		Frauen	
	Eiweiß des Serums Proz.	ccm n/10 $KMnO_4$ auf 100 ccm Serum	Eiweiß des Serums Proz.	ccm n/10 $KMnO_4$ auf 100 ccm Serum
1,0240—1,0250	6,79	410	—	—
1,0250—1,0260	7,43	425	7,72	450
1,0260—1,0270	7,85	475	8,13	470
1,0270—1,0280	—	—	8,21	480
1,0280—1,0290	8,67	525	8,50	515
1,0290—1,0300	—	—	—	—
1,0300—1,0310	—	—	9,16	575
Durchschnittlich:	7,69	—	8,34	—

Aus der Tabelle ersieht man erstens, daß ein Parallelismus zwischen dem spezifischen Gewicht und dem Eiweißgehalt des Serums besteht. Zweitens ist eine Korrelation zwischen dem spezifischen Gewicht und der Permanganatmenge vorhanden. Es ist einleuchtend, daß das Permanganat bei der Titration hauptsächlich, wenn nicht ausschließlich für die Oxydation der Eiweißstoffe des Serums verbraucht wird. Endlich sehen wir drittens, daß das männliche Serum im Durchschnitt 7,69 Proz. und das weibliche 8,34 Proz. Eiweißstoffe enthält, d. h. das weibliche Serum ist um 8,5 Proz. an Eiweißstoffen reicher.

Nun erübrigt es sich noch, die Ergebnisse der Untersuchung der Kaninchensera zu betrachten. Hier wurde nur das spezifische Gewicht bestimmt, da das Serum anderweitig und für andere Zwecke analysiert wurde.

Tabelle III. Kaninchen.

Nr.	Spezifisches Gewicht des Serums	Geschlecht	Bemerkung
1	1,0229	♂	
2	1,0230	♂	
3	1,0232	♂	
4	1,0240	♀	Trächtig
5	1,0242	♂	
6	1,0249	♀	Stillt
7	1,0252	♀	Stillt
8	1,0255	♀	
9	1,0256	♀	
10	1,0271	♀	
11	1,0278	♀	
12	1,0293	♀	

In Tabelle III ist das spezifische Gewicht der 12 Kaninchensera angegeben. Das niedrigste spezifische Gewicht entfällt auf die Sera von vier Männchen, das höchste auf die Sera der fünf normalen Weibchen. Die Mitte zwischen den normalen Männchen und Weibchen nehmen ein trächtiges und zwei stillende Weibchen ein. Aus den Angaben der letzten Tabelle ziehen wir den Schluß, daß das Serum der männlichen Tiere, ebenso wie wir das an Menschen beobachteten, spezifisch leichter ist als das der

normalen Weibchen. Das Serum der trächtigen und stillenden Weibchen kann nach seinem spezifischen Gewicht dem männlichen Serum ähnlich werden.

Auf Grund des gesamten dargestellten Materials steht zweifellos fest, daß das Serum des weiblichen Blutes spezifisch schwerer als das männliche ist. Das gelang uns an einem Material zu erweisen, das 54 menschliche und 12 Kaninchenblutproben umfaßt. Das höhere spezifische Gewicht des weiblichen Serums hängt davon ab, daß es im Durchschnitt um 8,5 Proz. mehr Eiweißstoffe enthält als das männliche. Durch diese Tatsache wird die bestehende Übereinstimmung zwischen dem spezifischen Gewicht, der Eiweißmenge und dem für die Titration des Serums verbrauchten Permanganat erklärt.

Unsere Angaben über den größeren Gehalt der Eiweißstoffe im weiblichen Serum finden ihre Bestätigung in verhältnismäßig älteren Arbeiten von *Bunge*, *C. Schmidt*, *Abderhalden* und anderen (10). Durch die Untersuchungen dieser Autoren ist erwiesen, daß das Serum des Weibes um 8,6 Proz. an organischen Substanzen reicher ist als das männliche Serum.

Die Tatsache, daß das Serum des weiblichen Blutes mehr Eiweiß und organische Stoffe enthält, muß eine ausschlaggebende Bedeutung für die präzise Deutung der *Manoilow*schen Reaktion haben. Führen wir die Reaktion so aus, wie der Entdecker vorschlägt, so fügen wir zum Serum eine bestimmte Quantität des Farbstoffs und des Permanganats hinzu. Je reicher das Serum an organischen Substanzen ist, desto mehr Permanganat wird es für deren Oxydation verbrauchen, desto weniger Permanganat wird für die Oxydation des Farbstoffs selbst übrigbleiben, und, indem er nicht zerstört wird, bleibt die Flüssigkeit blauviolett gefärbt. In den Fällen, in welchen im Serum weniger organische Substanzen vorhanden sind, wird dasselbe auch weniger Permanganat verbrauchen und eine größere Menge wird für die Oxydation des Farbstoffs, d. h. für die Entfärbung verbraucht. Wendet man die Bezeichnungen von *Manoilow* an, so haben wir im ersten Falle die „weibliche" und im zweiten die „männliche" Reaktion.

Außerdem haben wir bei der *Manoilow*schen Reaktion noch ein Moment, das ihre Übereinstimmung mit dem Geschlecht begünstigt. Da die Mehrzahl der Untersucher, welche diese Reaktion anwenden, mit einer nach dem Färbestandard bereiteten Emulsion des Vollbluts arbeiten, und da weiter schon längst bekannt ist, daß das männliche Blut 10 bis 15 Proz. mehr Erythrocyten enthält als das weibliche Blut (10), so folgt daraus, daß das männliche Blut bei der Bereitung der Emulsion für die Reaktion um 10 bis 15 Proz. stärker als das weibliche verdünnt wird. Da nun aber das weibliche Blut um 8,5 Proz. mehr Serumeiweiß enthält, so muß in letzter Linie die Emulsion des weiblichen Blutes um

18 bis 23 Proz. mehr organische Substanzen enthalten als die aus dem männlichen Blute hergestellte Emulsion. Eine direkte Folge dieses Umstandes ist der Überschuß an Permanganat in der männlichen Emulsion und sein Mangel in der weiblichen. Im ersten Falle werden wir eine Entfärbung, d. h. eine „männliche", und im zweiten Falle eine Färbung, d. h. eine „weibliche" Reaktion vor uns haben.

Schlußfolgerungen.

1. Das Serum des weiblichen Blutes ist spezifisch schwerer als das männliche Serum. Das höhere spezifische Gewicht des weiblichen Serums hängt davon ab, daß es im Durchschnitt um 8,5 Proz. mehr Eiweißstoffe als das männliche Serum enthält.

2. Die Reaktion von *Manoilow* darf durchaus nicht als eine Reaktion auf das Geschlechtshormon betrachtet werden. Ihre Ursache in der etwaigen Wasserstoffionenkonzentration, im Elektrolytgehalt (wie $K^{\cdot}$ und $Ca^{\cdot\cdot}$), oder in irgend einer X-Substanz zu suchen, erlauben gar keine Angaben von seiten der chemischen Blutzusammensetzung.

3. Die Ursache der *Manoilow*schen Reaktion in denjenigen Fällen, in denen sie mit dem Geschlecht übereinstimmt, hängt von dem größeren Eiweißgehalt im Serum des weiblichen Blutes ab.

Literatur.

1) *Manoilow*, Wratschebnaja gaseta 1923, Nr. 15, S. 346. — 2) *Derselbe*, ebendaselbst 1924, Nr. 1, S. 15. — 3) *Egorow*, ebendaselbst 1923, Nr. 24, S. 516. — 4) *Ssolowtzowa*, ebendaselbst 1925, Nr. 20, S. 482. — 5) *Derselbe*, Mitteilung in der Sitzung der Russischen Endokrinologischen Gesellschaft (Leningrad) am 21. Mai 1926. — 6) *Lifschitz*, Žurnal dlja ussowerschenstwowania wratschej 1926, Nr. 1, Leningrad. — 7) *Manoilow*, Münch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 51. — 8) *Calisto*, C. r. de la Soc. de Biol. **94**, 904, 1926. — 9) *Popow*, Mitteilung in der Sitzung der Russischen Endokrinologischen Gesellschaft (Leningrad) am 26. März 1926. — 10) Zitiert nach *O. Hammarsten*, Lehrb. d. physiol. Chem., 5. Aufl., 1904.

Über die Ernährung von Pflanzen mit Aldehyden.

Von

Th. Sabalitschka.

VII. Mitteilung:

Erhöhung des Kohlehydratgehaltes von Elodea canadensis durch Acetaldehyd.

Von

Th. Sabalitschka und H. Weidling.

(Aus dem pharmazeutischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 12. Juli 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

In vorausgehenden Mitteilungen[1]) ist eine Verwertung des Formaldehyds zur Synthese höherer Kohlehydrate durch Pflanzen im Hellen und Dunkeln berichtet. Diese Ausnutzung des Formaldehyds zur Synthese höherer Kohlehydrate auch ohne Energiezufuhr durch Licht steht in Übereinstimmung mit der *v. Baeyer*schen Assimilationshypothese und dem neuerdings von *G. Klein* und *O. Werner*[2]) erbrachten Nachweis, daß Formaldehyd bei der normalen Assimilation der Pflanzen gebildet wird.

Ähnlich wie beim Formaldehyd prüften wir auch den Einfluß von Acetaldehyd auf den Kohlehydratgehalt von Pflanzen. Scheint doch dem Acetaldehyd bei der Umwandlung der Kohlehydrate im tierischen und pflanzlichen Organismus die gleiche Bedeutung zuzukommen wie dem Formaldehyd bei der pflanzlichen Synthese von Zucker und Stärke aus Kohlensäure. *C. Neuberg* und seine Mitarbeiter *E. Färber* und *E. Reinfurth*[3]) haben Acetaldehyd als Zwischenprodukt der alkoholischen Zuckergärung nachgewiesen.

---

[1]) *Th. Sabalitschka*, Ber. d. Deutsch. pharmaz. Ges. **32**, 278, 1922; Zeitschr. f. angew. Chem. **35**, 684, 1922; Pharm. Monatsh. **4**, 169, 1923; diese Zeitschr. **148**, 370, 1924; *Th. Sabalitschka* und *H. Riesenberg*, ebendaselbst **144**, 545, 551; **145**, 373, 1924; *Th. Sabalitschka* und *H. Weidling*, ebendaselbst **172**, 45, 1926.

[2]) Diese Zeitschr. **168**, 361, 1926.

[3]) Ebendaselbst **78**, 238, 1917; **89**, 365, 1918; **106**, 281, 1920.

Mit dem von *C. Neuberg* begründeten Abfangverfahren stellten dann verschiedene Forscher die intermediäre Entstehung von Acetaldehyd bei tierischen und pflanzlichen Organismen fest. *J. Hirsch*[1]) fand Acetaldehyd in der überlebenden Muskulatur von Rana esculenta, von der Schleie und dem Karpfen, *C. Neuberg* und *A. Gottschalk*[2]) stellten die Bildung von Acetaldehyd durch Brei von überlebenden Leber- bzw. Muskelzellen von Meerschweinchen, Kaninchen und Gans, durch ein Lebertrockenpräparat vom Kaninchen und durch die zerschnittene Froschmuskulatur fest, *W. Stepp* und *R. Feulgen* und *W. Stepp* und *I. Rothman-Manheim*[3]) fanden Acetaldehyd im Urin gesunder und kranker Personen, *R. Tateyana*[4]) beobachtete Produktion von Acetaldehyd aus Glucose durch die menschliche Placenta und Brustdrüse. Bei pflanzlichen Organismen ermittelte *Neuberg* die Acetaldehydbildung nicht nur durch die Hefe, sondern gemeinsam mit *Nord, Wolff* und *Cohn*[5]) auch durch zahlreiche andere gärungserregende Pilze und Bakterien, während *O. Acklin*[6]) die wichtige Rolle des Acetaldehyds als intermediäres Zellstoffwechselprodukt bei Bacterium pyocyaneum dartat und *H. Haehn* und *W. Kinttof*[7]) Acetaldehydbildung aus Zucker und dessen Verwendung zur Synthese von Fett bei Endomyces vernalis nachwiesen. Auch bei der Atmung höherer Pflanzen tritt nach den von *C. Neuberg* und *Gottschalk*[8]) und von *J. Bodnár, Ch. Szepessy* und *J. Ferenczy* und *J. Bodnár* und *P. Hoffner*[9]) mit ganzen und gepulverten Samen und von *S. Kostytschew, C. Hübbenet* und *A. Scheloumoff*[10]) mit Pappelblüten ausgeführten Versuchen Acetaldehyd auf. *C. Griebel*[11]) fand bei eingehenden Untersuchungen Acetaldehyd nicht nur in zahlreichen Früchten, sondern auch in Blättern, Blattstielen, Zweigen und Wurzeln höherer Pflanzen, ferner in Blätterpilzen. Früher hatten schon *Müller-Thurgau* und *Osterwalder*[12]) Acetaldehyd in liegenden und teigig werdenden Äpfeln und Birnen, *Th. Curtius* und *H. Franzen*[13]) in Blättern, *P. Maye*[14]) in Maissamen und anderem, *C. Neuberg* und *A. Gottschalk*[15]) in Bananen gefunden. *Meirion Thomas*[16]) stellte fest, daß weder Acetaldehyd noch Äthylalkohol normalerweise sich als Zwischen- oder Endprodukt der Atmung

[1]) Diese Zeitschr. **134**, 415, 1923.

[2]) Klin. Wochenschr. **2**, 1458, 1923; Deutsch. med. Wochenschr. **49**, 1407, 1923; diese Zeitschr. **146**, 164, 582, 1924; **151**, 169, 1924; **158**, 253, 1925.

[3]) Diese Zeitschr. **127**, 13, 1922; **146**, 349, 1924; Zeitschr. f. physiol. Chem. **114**, 301, 1921; **119**, 72, 1922.

[4]) Diese Zeitschr. **163**, 292, 297, 1925.

[5]) Ber. **55**, 3634, 1922; diese Zeitschr. **96**, 158, 1919; **139**, 527, 1923; **160**, 256, 1925.

[6]) Diese Zeitschr. **164**, 312, 1925.

[7]) Zeitschr. f. techn. Biol. **9**, 217, 1921; Ber. **56**, 439, 1923.

[8]) Diese Zeitschr. **151**, 167, 1924; **160**, 256, 1925; Naturwiss. **13**, 1059, 1925.

[9]) Diese Zeitschr. **165**, 16, 145, 1925.

[10]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **83**, 105, 1913.

[11]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. **47**, 438, **48**, 218, 221, 1924; **49**, 94, **105**, 1925.

[12]) Landw. Jahrb. d. Schweiz **49**, 400, 1915.

[13]) Ann. **404**, 111, 1914.

[14]) C. r. **151**, 1383, 1910.

[15]) Diese Zeitschr. **160**, 260, 1925.

[16]) Biochem. Journ. **19**, 927; Chem. Centralbl. **1926**, I, 2710.

von Apfelzellen an der Luft anhäuft, oder durch das Apfelgewebe oxydiert wird; wohl findet sich bei Abwesenheit von Sauerstoff Acetaldehyd in Spuren, Äthylalkohol in größeren Mengen, so daß Äthylalkohol und Acetaldehyd sich wie 50 : 1 verhalten; dagegen nimmt bei einem erheblichen Kohlensäuregehalt der Atmosphäre trotz Anwesenheit von Sauerstoff der Acetaldehyd erheblich zu, so daß dann Äthylalkohol und Acetaldehyd im Verhältnis 2 : 1 stehen. Auch in ätherischen Ölen fand man wiederholt Acetaldehyd; so stellten ihn *E. Gildemeister* und *K. Stephan*[1]) in Rosmarinöl, *Fr. W. Power* und *Cl. Kleber*[2]) im amerikanischen Pfefferminzöl fest; nach *Schimmel & Co.* kommt Acetaldehyd in den Kohobationswässern der Irisöldestillation vor[3]) und tritt bei der Destillation von Kümmel in großen Mengen auf[4]).

Eingehende Untersuchungen über das Vorkommen von Acetaldehyd in höheren Pflanzen stellten *G. Klein* und *K. Pirschle*[5]) an. Diese Forscher wiesen nach, daß alle stark atmenden Pflanzenorgane, wie Blüten und Keimlinge und auch Blätter, Wurzeln usw. der verschiedensten Pflanzen sowohl bei aeroben wie anaeroben Bedingungen Acetaldehyd als Zwischenprodukt bilden, worin sie eine wichtige Stütze für die Annahme eines Parallelismus und eines innigen Zusammenhanges von Gärung, anaerober und aerober Atmung sehen. Während *G. Klein* und *K. Pirschle* die Entstehung von Acetaldehyd ursprünglich nur bei *stärke*reichen und *eiweiß*reichen Samen festgestellt hatten, wies das gleiche *K. Pirschle*[6]) dann auch für die dritte Gruppe, die *fett*reichen Samen nach. *K. Pirschle* nimmt an, daß Acetaldehyd in keimenden Samen nicht nur durch Veratmung von Zucker entsteht, sondern auch beim Übergang der Fettsäuren in den Zucker eine Rolle spielen dürfte; daß bei dem entgegengesetzten Vorgang, der Umwandlung von Zucker in Fett, Acetaldehyd als Zwischenprodukt auftritt, hatten *C. Neuberg* und *B. Arinstein*[7]) bei der Bildung von Buttersäure aus Zucker durch die Buttersäurebakterien gezeigt; dem entspricht auch die von *H. Hahn* und *W. Kinttof*[8]) beobachtete, oben erwähnte Fettbildung aus Acetaldehyd durch Endomyces vernalis und die auf diese Beobachtung sich stützende Ansicht der beiden Forscher, daß die Umwandlung der Kohlehydrate zu Fetten in der lebenden Zelle über den Acetaldehyd gehe. Auch *J. Stoklasa* und *J. Bareš*[9]) fanden bei der anaeroben Atmung von Pflanzen intermediär Acetaldehyd. Eine wichtige Rolle spielt nach den Versuchen von *K. Boresch*[10]) über die frühtreibende Wirkung des Warmbades der Acetaldehyd bei diesem Frühtreiben ruhender Winterknospen; infolge Sauerstoffarmut des Warmbades entsteht im anaeroben Stoffwechsel der Knospe Acetaldehyd in größeren Mengen, und darauf ist, wie *Boresch* zeigte, die Wirkung des Warmbades zurückzuführen. *L. Elion*[11])

[1]) Arch. d. Pharmaz. **235**, 587, 1897.
[2]) Ebendaselbst **232**, 639, 1894.
[3]) Ber. v. *Schimmel & Co.* Oktober 1908, S. 62.
[4]) Ebendaselbst, Oktober 1899, S. 32.
[5]) Die Naturwiss. **13**, 22, 1925; diese Zeitschr. **168**, 340, 1926.
[6]) Diese Zeitschr. **169**, 482, 1926.
[7]) Ebendaselbst **117**, 269, 1921.
[8]) Zeitschr. f. techn. Biol. **9**, 217, 1921; Ber. **56**, 439, 1923.
[9]) Ann. d. Tschechoslowak. Akad. d. Landw. 1926; Chem. Centralbl. **1926**, I. 3067.
[10]) Diese Zeitschr. **153**, 313, 1924; **170**, 466, 1926.
[11]) Diese Zeitschr. **169**, 470; **171**, 40, 1926.

stellte fest, daß die Hefe nicht nur zugeführten Acetaldehyd mit dem auf dem Gärungswege gebildeten Acetaldehyd zum Acetoin vereint, sondern Acetoin auch ohne jede Gärung erzeugt wird; ja es scheint für die Acyloinbildung überhaupt nicht notwendig zu sein, daß ein Teil der Aldehydmoleküle in statu nascendi vorhanden ist — sei es nun auf dem Gärungs- oder dem Atmungswege entstanden —, vielmehr scheint der zugegebene Acetaldehyd auch direkt zu Acetoin übergeführt zu werden; umgekehrt zeigten *J. A. Kluyver, H. J. L. Donker* und *F. Visser 't Hooft*[1]), daß bei der Gärung auch ohne künstliche Zuführung von Acetaldehyd Acetoin und 2, 3-Butylenglykol entsteht, wenn man nur den bei der Gärung entstehenden Wasserstoff wegfängt und so eine Anreicherung des Aldehyds bewirkt.

Wir boten der Wasserpest, Elodea canadensis R. und M., deren Kohlehydratgehalt durch mehrtägigen Entzug des Lichtes herabgesetzt war, eine Reihe von Tagen in der Nährlösung Acetaldehyd in den Konzentrationen 0,000 bis 0,128 Proz., und zwar sowohl im Hellen wie im Dunkeln; bei den Versuchen im Hellen war die Gegenwart von Kohlensäure, also die normale Assimilation ausgeschlossen, wohl wurde den Pflanzen kohlensäurefreie Luft in ausreichendem Maße geboten. Sodann stellten wir den Stärkegehalt der Pflanzen fest. Alle mit Acetaldehyd behandelten Pflanzen enthielten mehr Kohlehydrat als die Pflanzen, denen unter sonst gleichen Bedingungen Acetaldehyd nicht zur Verfügung stand; diese Beobachtung war stets zu machen, unabhängig von dem ursprünglichen Kohlehydratgehalt des Pflanzenmaterials, der je nach dem Entwicklungszustand der Pflanzen und der Jahreszeit verschieden war.

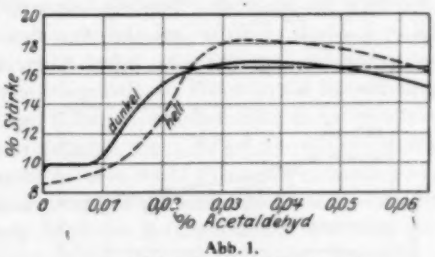


Abb. 1.
–·–·– Stärkegehalt vor dem Versuch.

In der Abb. 1 ist die Abhängigkeit des Stärkegehalts von der Acetaldehydkonzentration wiedergegeben, wie sie bei zwei gleichzeitig im Hellen und Dunkeln durchgeführten Versuchen sich ergab. Während die Pflanzen vor dem Versuch nach dem mehrtägigen Lichtentzug 16,4 Proz. Stärke in der Trockensubstanz enthielten, fanden wir nach dem weiteren zehntägigen Unterbinden der normalen Assimilation bei den Pflanzen im Hellen 8,4 Proz., bei den Pflanzen im Dunkeln 9,7 Proz. Stärke, wenn den Pflanzen kein Acetaldehyd geboten wurde. Bei den mit Acetaldehyd behandelten Pflanzen stieg sowohl im Hellen wie im Dunkeln der Stärkegehalt bis zur Acetaldehydkonzentration von 0,032 Proz. an, um dann mit steigender Acetaldehyd-

[1]) Ebendaselbst **161**, 361, 1925.

konzentration wieder zu fallen. Die in diesen hohen Acetaldehydkonzentrationen sich befindenden Pflanzen ließen Schädigungen durch die zu hohe Konzentration schon äußerlich erkennen; dagegen sahen die Pflanzen der mittleren Konzentrationen bei allen Versuchen gut aus und stets besser als die Pflanzen, welchen unter sonst gleichen Bedingungen Acetaldehyd nicht zur Verfügung stand. Bei der günstigsten Acetaldehydkonzentration von 0,032 Proz. war der Kohlehydratgehalt der Pflanzen nach dem Versuch sogar höher als vor dem Versuch. Während z. B. bei einem Versuch die verwendeten Pflanzen nach dem mehrtägigen Lichtentzug vor der Behandlung mit Acetaldehyd 16,4 Proz. Stärke in der Trockensubstanz enthielten, fanden wir nach 10 Tagen bei dieser Acetaldehydkonzentration im Hellen 18,1 Proz., im Dunkeln 16,5 Proz. Stärke. Ein gleichmäßiger Einfluß des Lichtes auf den Stärkegehalt war bei den verschiedenen Konzentrationen nicht vorhanden; bei den niederen Konzentrationen enthielten im Hellen die Pflanzen etwas weniger Stärke als im Dunkeln, bei den Konzentrationen von 0,032 Proz. verhielt sich der Stärkegehalt der Pflanzen im Hellen und Dunkeln gerade umgekehrt. Bei den früheren Versuchen mit Formaldehyd war im Hellen der Stärkegehalt durchweg niederer als im Dunkeln, was wir auf den größeren Kohlehydratverbrauch der im Hellen sich befindenden Pflanzen zurückführten.

Die Abnahme des Stärkegehaltes bei den hohen Aldehydkonzentrationen, wie auch das schlechte Aussehen der in diesen Konzentrationen sich befindenden Pflanzen legte Versuche über die Einwirkung der verschiedenen Aldehydkonzentrationen auf pflanzliche Fermente nahe; wir prüften das Verhalten derselben Aldehydkonzentrationen gegenüber dem Ferment Katalase und gegenüber den die Assimilation und die Atmung durchführenden Fermenten, indem wir die Pflanzen mit den verschiedenen Aldehydkonzentrationen behandelten und die in gleichen Zeiten entwickelten Gasvolumina ermittelten.

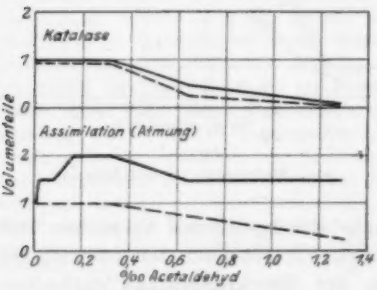


Abb. 2.
—— Erste Beobachtungszeit.
----- Zweite Beobachtungszeit.

In Abb. 2 sind die Gasvolumina wiedergegeben, welche in den ersten beiden Beobachtungszeiträumen erhalten wurden; bei der Einwirkung des Aldehyds auf die Katalase bezieht sich die eine Kurve auf die innerhalb der ersten 3 Stunden, die andere Kurve auf die zwischen der dritten und sechsten Stunde nach dem Verbringen der Pflanzen

aus den Acetaldehydlösungen in die Wasserstoffsuperoxydlösung erhaltenen Gasvolumina, bei der Einwirkung des Aldehyds auf die normale Assimilation (und Atmung) bezieht sich die eine Kurve auf die in den ersten 24 Stunden, die andere Kurve auf die zwischen 24 und 48 Stunden nach Eintragen der Pflanzen in die Acetaldehydlösungen erhaltenen Gasvolumina. Acetaldehyd verändert danach bis zur Konzentration von 0,032 Proz. die bei der katalytischen Zerlegung von Wasserstoffsuperoxyd erhaltenen Gasvolumina nicht; bei den höheren Konzentrationen nimmt die Gasentwicklung aber allmählich ab. Dagegen tritt bei der durch die normale Assimilation gebildeten Gasmenge innerhalb der ersten 24 Stunden bei allen angewandten Aldehydkonzentrationen bis zu 0,128 Proz. eine Vermehrung ein. In den Konzentrationen 0,016 und 0,032 Proz. entwickelten die Pflanzen gerade die doppelte Gasmenge wie in aldehydfreier Nährlösung. In den nächsten 24 Stunden war eine solche Steigerung der Gasentwicklung nicht mehr zu beobachten; hier war die Gasentwicklung vielmehr bei den in aldehydfreier Nährlösung und in den Aldehydkonzentrationen bis zu 0,032 Proz. sich befindenden Pflanzen ganz gleichmäßig, um bei den stärkeren Konzentrationen dann allmählich abzunehmen.

In beiden Fällen setzten somit die über 0,032 Proz. liegenden Acetaldehydkonzentrationen die Tätigkeit der Fermente herab, also die Lebensvorgänge in den Pflanzen. Daher dürfte auch die Synthese von Stärke mehr oder weniger unterbunden werden, zugleich wohl aber auch ihr Abbau, so daß trotz hoher, die Pflanzen schädigender Acetaldehydkonzentration der Stärkegehalt der Pflanzen bei Beendigung des Versuchs höher ist, als bei den Pflanzen, welchen unter sonst gleichen Bedingungen Acetaldehyd nicht geboten war. Es ist die Abnahme des Stärkegehalts bei den Pflanzen in den 0,032 Proz. überschreitenden Konzentrationen auf eine Schädigung der pflanzlichen Fermente durch den Aldehyd zurückzuführen. Ähnliche Beobachtungen konnten wir auch bei Formaldehyd machen; dort fiel aber die Gasmenge, welche bei den das Optimum überschreitenden Konzentrationen sich entwickelte, noch rascher mit den steigenden Konzentrationen als hier. Bei den Formaldehydversuchen fanden wir als optimale Konzentration 0,024 Proz., so daß die hier gefundene optimale Konzentration von 0,032 Proz. jener nahe liegt. Das Abfallen des Stärkegehalts bei den höheren Acetaldehydkonzentrationen zeigt auch, daß tatsächlich irgend eine Verwertung des Aldehyds bei den nicht schädigenden Konzentrationen stattfindet; würde der Einfluß des Acetaldehyds auf die Pflanze nur in einer Hemmung oder Verhinderung der Tätigkeit der Fermente, welche den Abbau durchführen, bestehen, und dadurch die bei Beendigung des Versuchs gefundenen höheren Stärkegehalte bedingt sein, oder würde das gefundene erhöhte Reduktionsvermögen

nicht auf den aus Stärke bei der Hydrolyse mit Säure gebildeten Zucker, sondern auf von Eiweißstoffen oder sonstwie zurückgehaltenen Acetaldehyd zurückzuführen sein, so könnte der Stärkegehalt bei den höheren Acetaldehydkonzentrationen nicht abnehmen. Gegen die Annahme, daß die Wirkung des Aldehyds nur in einer Hemmung des normalen Stärkeabbaues bestehe, spricht auch die direkte Erhöhung des Stärkegehalts der mit Acetaldehyd behandelten Pflanzen bei Beendigung des Versuchs gegenüber dem Stärkegehalt der Pflanzen vor dem Versuch, welche wiederholt bestand.

Während wir beim Formaldehyd keine Vermehrung der Gasentwicklung beobachten konnten, trat eine solche hier bei der Assimilationsgasentwicklung durch Acetaldehyd ein. Acetaldehyd scheint somit auf die normale Assimilation stimulierend zu wirken. Dies steht in Übereinstimmung mit der Feststellung von *C. Neuberg*[1]), daß Acetaldehyd die Gärung durch lebende Hefe stimuliert, wenn auch nicht im gleichen Maße wie die Gärung durch Hefesaft[2]). Bei lebender Hefe verwendete *Neuberg* nur eine ungefähr 0,0028proz. Lösung von Acetaldehyd, beim Hefesaft bediente sich *Neuberg* Acetaldehydkonzentrationen von 0,00034 bis 0,34 Proz.; die Stimulation der Hefesaftgärung war bei der Konzentration von 0,34 Proz. nur wenig stärker als bei der 100mal schwächeren Konzentration. Im Gegensatz zu Acetaldehyd verhindert nach *C. Neuberg*[3]) Formaldehyd in der äquimolekularen Konzentration von 0,23 Proz. die Gärung durch Hefesaft vollkommen; bei lebender Hefe stellte *Th. Sabalitschka*[4]) eine vollkommene Unterbindung der Gärung durch 0,3 bis 0,4 Proz. Formaldehyd fest. Auch bei unseren früheren Versuchen[5]) mit Formaldehyd zeigte der Formaldehyd in den höheren Konzentrationen eine stärker hemmende Wirkung auf die Fermente von Elodea als hier der Acetaldehyd. Formaldehyd ist in höheren Konzentrationen giftiger für die pflanzlichen Fermente als Acetaldehyd.

Bei den Versuchen von Formaldehyd war im Gegensatz zu den hier bei Acetaldehyd gemachten Beobachtungen eine Stimulation nicht bemerkbar, wie *Th. Sabalitschka*[6]) auch eine solche bei der Gärung durch lebende Hefe nicht hatte feststellen können; wohl kann die zellfreie Hefesaftgärung durch Formaldehyd stimuliert werden, wie ja *C. Neuberg* gezeigt hat. Der eine von uns (*Sabalitschka*) hat schon dargetan[7]),

[1]) Diese Zeitschr. **101**, 267, 1920.
[2]) Ebendaselbst **88**, 163ff., 1918.
[3]) Ebendaselbst **88**, 177, 1918.
[4]) Ebendaselbst **148**, 379, 1924.
[5]) Ebendaselbst **172**, 48 und 55 bis 56, 1926.
[6]) Ebendaselbst **148**, 379, 1924.
[7]) Ebendaselbst **148**, 380, 1924.

wie das verschiedene Verhalten der lebenden Hefe und des Hefesaftes gegenüber Formaldehyd nach den Überlegungen von *C. Neuberg* verständlich ist. Lebende Organismen können nämlich von Natur aus schon mit aldehydischen Aktivatoren weitgehend versehen sein, so daß eine weitere Zufuhr von Aldehyd keine Stimulation mehr auslöst; dies traf bei den Untersuchungen von *Th. Sabalitschka* für die lebende Hefe und Formaldehyd und bei unseren Versuchen für Elodea und Formaldehyd zu. Haben aber die in dem lebenden Organismus vorhandenen aldehydischen Aktivatoren noch nicht das Maximum erreicht, so kann dann durch künstliche Zufuhr solcher Aktivatoren wohl eine Stimulation ausgelöst werden, wie ja die Versuche *C. Neubergs* bei lebender Hefe und diese Versuche bei Elodea mit Acetaldehyd zeigen. Daß beim Hefesaft *C. Neuberg* eine erheblich stärkere Stimulation als bei der lebenden Hefe durch Acetaldehyd beobachtete, ist bereits erwähnt und nach dem soeben Gesagten erklärlich.

Die stimulierende Wirkung des Acetaldehyds auf den pflanzlichen Organismus spielt nach den schon oben angeführten Versuchen von *K. Boresch* eine wichtige Rolle beim Treiben der Knospen im Frühjahr; nach *K. Boresch* beruht das Frühtreiben der Knospen, das durch das Warmbad ausgelöst wird, auf einer Entstehung von Acetaldehyd aus Zucker in den Knospen infolge Sauerstoffmangel. Vielleicht findet auch eine Stimulation durch Acetaldehyd bei dem normalen Treiben von Knospen und der normalen Keimung von Samen statt; wurde doch, wie schon oben dargetan, neuerdings in keimenden Samen von verschiedenen Forschern das Auftreten von Acetaldehyd nachgewiesen.

Diese Versuche ergaben eine Erhöhung des Stärkegehalts durch Zufuhr von Acetaldehyd bei Elodeapflanzen, deren normale Assimilation unterbunden war. Bei der optimalen Acetaldehydkonzentration von 0,032 Proz. fanden wir nicht nur den höchsten Stärkegehalt, sondern zeigte auch die Pflanze den besten Zustand. Dieser Umstand dürfte die Annahme rechtfertigen, daß das so gefundene Ansteigen der reduzierenden Substanz nach der Hydrolyse durch Kochen mit Säure tatsächlich auf einen höheren Gehalt der Pflanzen an den lebenswichtigen normalen Kohlehydraten zurückzuführen ist und höchstens nur zum geringen Teil auf Acetoin und ähnliche Stoffe.

Wie ist diese Erhöhung des Stärkegehalts durch Acetaldehyd zu erklären? Daß dies nicht einfach durch die Annahme einer Unterbindung des fermentativen Kohlehydratabbaus möglich ist, ist weiter oben schon gesagt; einer solchen Annahme widerspricht das Ausbleiben einer Giftwirkung der für den Stärkegehalt optimalen Aldehydkonzentration auf pflanzliche Fermente, der Abfall des Stärkegehalts bei den höheren Acetaldehydkonzentrationen und die wiederholt beobachtete direkte Erhöhung des Stärkegehalts der Acetaldehydpflanzen gegen-

über denselben Pflanzen vor der Behandlung mit Acetaldehyd. Letztere beiden Tatsachen widersprechen auch der eventuellen Annahme, das der von außen zugeführte Acetaldehyd nur deshalb den Abbau der Kohlehydrate einschränke, da durch seine Anwesenheit das normale Reaktionsgleichgewicht verändert wird, oder da der von außen zugeführte Aldehyd direkt und ausschließlich von der Pflanze zu *dem* Zwecke benutzt wird, zu welchen sie sonst den Acetaldehyd erst aus ihrem Kohlehydrat bilden muß. Eine einfache Reizwirkung des Aldehyds auf die normale Kohlehydratproduktion, die sich ja bei unseren Versuchen ergab, genügt zur Erklärung des erhöhten Stärkegehalts auch nicht, da durch die Versuchsanordnung die normale Kohlenstoffassimilation unterbunden war. Es dürfte am meisten Berechtigung der Annahme zukommen, daß der Acetaldehyd von der Pflanze zur Synthese der Kohlehydrate verwertet werden kann, wobei natürlich verschiedene Zwischenprodukte auftreten können.

Wie bei den Versuchen mit Formaldehyd, der ja nach der Assimilationshypothese von *v. Baeyer* bei der Umwandlung der Kohlensäure zu Zucker und Stärke im Pflanzenkörper entsteht, eine Erhöhung des Zucker- und Stärkegehalts zu beobachten war, so bestand diese Erhöhung auch bei dem Acetaldehyd, an dessen Auftreten beim Abbau der Kohlehydrate oder Fette man kaum mehr zweifeln wird. Es kann somit scheinbar das normale Zwischenprodukt der abbauenden Atmung von der Pflanze wieder direkt zum Aufbau von Kohlehydrat nutzbar gemacht werden; der längere Weg über das höchste Oxydationsprodukt, die Kohlensäure, und das Zwischenprodukt Formaldehyd wäre somit beim Kreislauf des Kohlenstoffs im Pflanzenleben nicht immer unbedingt nötig.

Diese Annahme steht in Übereinstimmung mit bereits von verschiedenen Forschern geäußerten Ansichten. So sprechen *C. Neuberg* und *E. Simon*[1]) den carboligatischen Wiederaufbau von Acetaldehyd zu Acetoin als eine unvollkommene *biochemische Rekonstruktion von Kohlehydrat* an. Acetoin ist Dimethylglykolaldehyd und kann auch als eine zweifach desoxydierte Tetrose aufgefaßt werden. Da der nach ihren Untersuchungen im Mittelpunkt der Abbaureaktionen der animalischen Zelle stehende Acetaldehyd normalerweise nicht zur Ausscheidung gelangt, schließen *C. Neuberg* und *A. Gottschalk*[2]), daß er anderweitig verbraucht wird, so unter anderem auch zur Synthese von Kohlehydrat. *H. v. Euler*[3]) nimmt an, daß aus den beim oxydativen Fettsäureabbau im Organismus entstehenden Spaltresten eine Synthese von Zucker

[1]) Diese Zeitschr. **156**, 378, 1925.
[2]) Ebendaselbst **162**, 484, 1925.
[3]) Ebendaselbst **164**, 20, 1925.

stattfindet, wenn sich auch die chemische Beschaffenheit dieser Spaltreste noch nicht genau angeben läßt; gemäß dem von *H. v. Euler* gegebenen Abbauschema der Fettveratmung entsteht aus Acetaldehyd Eiweiß und Fett. Wie oben schon erwähnt, hält auch *K. Pirschle*[1]) nach seinen Versuchsergebnissen bei der Keimung fetthaltiger Samen die Umwandlung des Fettes zu Zucker über Acetaldehyd für wahrscheinlich.

Versuche.

A. Im Hellen.

Bei den Versuchen im Hellen war es notwendig, den Zutritt von Kohlensäure zu den Pflanzen zu verhindern. Dies war möglich durch Benutzung der bereits bei den Ernährungsversuchen mit Formaldehyd angewendeten Apparatur[2]). Auch die übrigen Versuchsbedingungen, ebenso die Untersuchungsmethoden entsprachen den damaligen. Wir benutzten Acetaldehyd *Kahlbaum*.

1. Versuch. Das aus dem Teich am Lauenburger Platz in Berlin-Steglitz stammende Pflanzenmaterial wurde nach gründlicher Säuberung in den Dunkelraum gebracht, wobei dem Wasser 0,1 Proz. *Sachs*sches Nährsalz zugegeben war. Zeit Mai und Juni 1923.

Nachdem durch viertägigen Lichtentzug der Stärkegehalt der Pflanzen unter den normalen gebracht war, teilten wir die Pflanzen in sieben gleiche Teile. Teil 1 wurde sofort untersucht, während die übrigen sechs Teile in *Woulfe*sche Flaschen gegeben wurden, die zu je drei zu der früher beschriebenen Apparatur zusammengeschlossen waren. Die den Pflanzen gebotenen Nährlösungen enthielten außer 0,1 Proz. *Sachs*schem Nährsalz im Liter

bei Teil	2	0,00 g	Acetaldehyd
„ „	3	0,01 g	„
„ „	4	0,04 g	„
„ „	5	0,08 g	„
„ „	6	0,32 g	„
„ „	7	0,64 g	„

Der Acetaldehyd wurde in kohlensäurefreiem Wasser gelöst, und von dieser Lösung benutzte man genau abgemessene Mengen zur Bereitung der Nährlösungen.

Vom 31. Mai bis 8. Juni befanden sich die Pflanzen in der Apparatur, wobei wir die Nährlösung jeden zweiten Tag erneuerten. Die Temperatur des Versuchsraums betrug 15 bis 19°. Bei Beendigung des Versuchs am 8. Juni war das Aussehen der in den verschiedenen Lösungen sich befindenden Pflanzen verschieden. Es waren zwar durch die stärkste Aldehydkonzentration in Teil 7 die Pflanzen scheinbar geschädigt, sie waren blaß und weich geworden, dagegen war der Zustand der Teile 6 und 5 in den mittleren Konzentrationen besser als der Teile 4 und 3 in den niederen Konzentrationen und der Zustand dieser besser als der von Teil 2, dem Acetaldehyd überhaupt nicht zur Verfügung stand.

---

[1]) Diese Zeitschr. **169**, 487 und 488, 1926.
[2]) Ebendaselbst **172**, 50, 1926.

	Aussehen	Stärkegehalt von 100 g Trockensubstanz g
Pflanzen vor dem Versuch	ziemlich gut	10,4
Pflanzen nach dem Versuch		
mit 0,00 g Acetaldehyd	etwas geschädigt	8,8
„ 0,01 g „	ziemlich gut	8,8
„ 0,04 g „	„ „	10,1
„ 0,08 g „	gut	11,4
„ 0,32 g „	„	12,5
„ 0,64 g „	geschädigt	12,0

2. Versuch. Der zweite Versuch wurde mit Pflanzenmaterial gleicher Herkunft und unter denselben Bedingungen wie der erste Versuch ausgeführt, nur waren die Pflanzen vor der Entnahme aus dem Teich bis zum Beginn des Versuchs in einem großen Gefäß im Freien aufgestellt; es war hier noch eine weitere Aldehydkonzentration eingeschaltet und die Dauer des Versuchs um 2 Tage verlängert. Zeit Juni 1923.

Nachdem die Pflanzen 4 Tage im Dunkeln sich befunden hatten, teilten wir das Material in acht gleiche Teile. Teil 1 wurde sofort untersucht, die Teile 2 bis 7 wurden in sieben *Woulfe*sche Flaschen verteilt, von denen je vier und je drei zu der Apparatur zusammengeschlossen waren. Die den Pflanzen gebotenen Nährlösungen enthielten außer 0,1 proz. *Sachs*schem Nährsalz im Liter

bei Teil 2	0,00 g	Acetaldehyd
„ „ 3	0,01 g	„
„ „ 4	0,04 g	„
„ „ 5	0,08 g	„
„ „ 6	0,16 g	„
„ „ 7	0,32 g	„
„ „ 8	0,64 g	„

Vom 13. bis 23. Juni befanden sich die Pflanzen in der Apparatur, wobei die Aldehydlösung jeden zweiten Tag erneuert wurde. Die Temperatur betrug 18 bis 20°. Bei Beendigung des Versuchs am 23. Juni verhielt sich das Aussehen der einzelnen Teile analog dem Aussehen der Teile des ersten Versuchs.

	Aussehen	Stärkegehalt von 100 g Trockensubstanz g
Pflanzen vor dem Versuch	ziemlich gut	16,4
Pflanzen nach dem Versuch		
mit 0,00 g Acetaldehyd	etwas geschädigt	8,4
„ 0,01 g „	ziemlich gut	8,8
„ 0,04 g „	„ „	9,0
„ 0,08 g „	gut	9,5
„ 0,16 g „	„	11,2
„ 0,32 g „	„	18,1
„ 0,64 g „	geschädigt	16,2

B. Im Dunkeln.

Die Versuche im Dunkeln führten wir in gleicher Weise aus wie die früheren Formaldehyd-Dunkelversuche[1]).

3. Versuch. Das Pflanzenmaterial erhielten wir durch gütige Vermittlung des Herrn Prof. Dr. *Graebner* aus dem Botanischen Garten Berlin, da zur Zeit der Ausführung des Versuchs im Freien geeignetes Material nicht zu beschaffen war. Zeit Februar und März 1923.

Das Pflanzenmaterial wurde gesäubert und 4 Tage ins Dunkle gestellt; hierauf teilten wir es in zehn gleiche Teile; Teil 1 untersuchten wir sofort, Teil 2 bis 10 verteilten wir auf neun Bechergläser und stellten diese im Dunkeln auf, wobei die Nährlösungen außer 0,1 Proz. *Sachs*schem Nährsalz im Liter enthielten:

bei Teil 2	. . . . .	0,00 g	Acetaldehyd
„ „ 3	. . . . .	0,01 g	„
„ „ 4	. . . . .	0,02 g	„
„ „ 5	. . . . .	0,04 g	„
„ „ 6	. . . . .	0,08 g	„
„ „ 7	. . . . .	0,16 g	„
„ „ 8	. . . . .	0,32 g	„
„ „ 9	. . . . .	0,64 g	„
„ „ 10	. . . . .	1,28 g	„

Der Versuch wurde vom 27. Februar bis 9. März, also 10 Tage lang, durchgeführt, wobei wir die Nährlösung jeden zweiten Tag erneuerten. Temperatur des Versuchsraumes 10 bis 12°. Bei Beendigung des Versuchs verhielt sich das Aussehen der Pflanzen ähnlich den bei den Versuchen im Hellen gemachten Beobachtungen.

	Aussehen	Stärkegehalt von 100 g Trockensubstanz g
Pflanzen vor dem Versuch	gut	20,3
Pflanzen nach dem Versuch		
mit 0,00 g Acetaldehyd	etwas schlechter als 1	11,1
„ 0,01 g „	ebenso	11,2
„ 0,02 g „	„	11,6
„ 0,04 g „	gut	13,2
„ 0,08 g „	„	13,3
„ 0,16 g „	„	13,8
„ 0,32 g „	„	18,4
„ 0,64 g „	geschädigt	15,6
„ 1,28 g „	sehr geschädigt	15,9

4. Versuch. Dieser Versuch wurde parallel mit dem zweiten Versuch ausgeführt, mit dem gleichen Pflanzenmaterial und den gleichen Bedingungen, also auch denselben Aldehydkonzentrationen. Temperatur des Versuchsraums 16 bis 20°. Das Aussehen der Pflanzen bei Beendigung des Versuchs am 23. Juni entsprach den bisherigen Beobachtungen.

[1]) Diese Zeitschr. 172, 53, 1926.

	Aussehen	Stärkegehalt von 100 g Trockensubstanz g
Pflanzen vor dem Versuch	ziemlich gut	16,4
Pflanzen nach dem Versuch		
mit 0,00 g Acetaldehyd	etwas geschädigt	9,7
„ 0,01 g „	schlechter als 1	10,0
„ 0,04 g „	ebenso	10,1
„ 0,08 g „	gut	10,2
„ 0,16 g „	„	13,9
„ 0,32 g „	„	16,5
„ 0,64 g „	geschädigt	15,0

Während wir bei den Formaldehyd-Ernährungsversuchen bei den Pflanzen im Hellen durchweg einen niederen Stärkegehalt als bei den Pflanzen im Dunkeln beobachteten, war hier eine derartige Gleichmäßigkeit nicht zu bemerken. Zwar sind die Stärkewerte der Pflanzen im Hellen auch hier im allgemeinen etwas niedriger als bei den Pflanzen des analogen Versuchs im Dunkeln, es ist aber der Stärkegehalt bei der optimalen Konzentration von 0,32 Proz. Acetaldehyd bei den Pflanzen im Hellen höher als bei den Pflanzen im Dunkeln.

C. Wirkung des Acetaldehyds auf pflanzliche Fermente.

Es wurde die Wirkung der verschiedenen Acetaldehydkonzentrationen auf das Ferment Katalase und die durch die Assimilation und Atmung verursachte Gasentwicklung, also auf die diese Lebensvorgänge durchführenden Fermente studiert. Die Versuche wurden gemäß der bei Assimilationsversuchen angewandten Trichtermethode ausgeführt.

5. Versuch. Gleiche Teile der Pflanzen gaben wir mehrere Tage in acht Gefäße, welche je 0,1 g *Sachs*sches Nährsalz, 1 Liter Wasser und 0,00, 0,01, 0,04, 0,08, 0,16, 0,32, 0,64 und 1,28 g Acetaldehyd enthielten. Hierauf brachten wir die Pflanzen in Mischungen von 1 Liter Brunnenwasser mit 10 ccm 3proz. Wasserstoffsuperoxydlösung, fingen die von ihnen dort entwickelten Gasmengen auf und maßen sie nach Ablauf bestimmter Zeiten. Es setzte bei den Pflanzen aus den Acetaldehydkonzentrationen 0,00 bis 0,32 Prom. eine ziemlich gleichmäßig starke Gasentwicklung ein, während die Gasentwicklung der Pflanzen aus den höheren Acetaldehydkonzentrationen geringer war. Nach 3 Stunden hatten die Pflanzen aus den Konzentrationen 0,00 bis 0,32 Prom. ungefähr gleiche Gasvolumina entwickelt, die Pflanzen aus der Konzentration 0,64 Prom. ungefähr die Hälfte, die Pflanzen aus der Konzentration 1,28 Prom. noch weniger. Innerhalb der nächsten 3 Stunden schieden die ersten sechs Teile wieder dieselben Gasvolumina ab, die Pflanzen aus der Konzentration 0,64 Prom. entwickelten nur noch ein Viertel und die Pflanzen aus der Konzentration 1,28 Prom. sehr wenig Gas. Ähnlich verhielten sich die Gasvolumina nach weiteren 18 Stunden.

Verhältnis der entwickelten Gasvolumina.

g Acetaldehyd im Liter	0,00	0,01	0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28
in den ersten 3 Stunden	1	1	1	1	1	1	0,5	0,12
in den nächsten 3 Stunden	1	1	1	1	1	1	0,25	0,06

6. Versuch. Acht gleiche Pflanzenteile gaben wir in Anschüttlungen von je 0,1 g *Sachs*schem Nährsalz mit je 1 Liter Wasser; die Nährlösungen waren mit ansteigenden Acetaldehydmengen wie beim fünften Versuch versetzt. Da wir den Versuch im November ausführten, stellten wir die Gefäße in einem geheizten Raume bei 15 bis 18° auf, und zwar an einem gegen Süden gelegenen Fenster, so daß die Mittagssonne ausgenutzt werden konnte. Der Versuch wurde um 12 Uhr mittags begonnen und die Ablesung der entwickelten Gasvolumina an den folgenden Tagen zur gleichen Zeit vorgenommen. Die Pflanzen der Aldehydkonzentrationen 0,01, 0,04 und 0,08 Prom. hatten etwa das 1,5fache, die der Aldehydkonzentrationen 0,16 und 0,32 Prom. das zweifache Volumen Gas abgeschieden, als die Pflanzen ohne Aldehyd, während die Pflanzen in den beiden noch stärkeren Aldehydkonzentrationen das 1,5fache Gasvolumen entwickelt hatten. Innerhalb der nächsten 24 Stunden war aber dann eine vermehrte Gasentwicklung gegenüber den Pflanzen ohne Aldehyd nicht mehr bemerkbar; es war die Gasentwicklung bei den beiden höchsten Konzentrationen jetzt geringer als bei den anderen Pflanzen. Innerhalb der folgenden 24 Stunden schieden die Pflanzen in den Konzentrationen 0,64 und 1,28 Prom. überhaupt kaum mehr Gas ab, alle anderen Pflanzen wieder gleiche Mengen.

Verhältnis der entwickelten Gasvolumina.

g Acetaldehyd im Liter	0,00	0,01	0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28
in den ersten 24 Stunden	1	1,5	1,5	1,5	2	2	1,5	1,5
in den nächsten 24 Stunden	1	1	1	1	1	1	0,75	0,25

Wir führten denselben Versuch auch im Dunkeln aus, wobei die erhaltenen Gasvolumina bei allen Pflanzen nur sehr gering waren und keine Vermehrung durch den Acetaldehyd zeigten. Dies legt die Annahme nahe, daß die bei Gegenwart von Acetaldehyd beobachtete Steigerung der Gasentwicklung durch eine Reizwirkung des Acetaldehyds auf die Assimilationstätigkeit bedingt ist; die Möglichkeit einer Stimulation der Atmung durch Acetaldehyd sei damit nicht verneint.

Zusammenfassung.

1. Durch Zugabe von Acetaldehyd zur Nährlösung wird der Stärkegehalt der Wasserpest, Elodea canadensis R. und M., deren normale Assimilation unterbunden ist, im Hellen und Dunkeln erhöht. Diese Erhöhung läßt auf eine Verwertung des Acetaldehyds zur Synthese höherer Kohlehydrate durch die Pflanze schließen; einen Aufbau höherer Kohlehydrate aus Acetaldehyd nahmen bereits *C. Neuberg* und *A. Gottschalk*, ferner *K. Pirschle* an, wie auch *v. Euler* auf eine Synthese des Zuckers aus den beim Abbau von Fetten entstehenden Spaltprodukten schließt.

2. Ein Einfluß des Lichtes auf die Erhöhung des Stärkegehalts durch Acetaldehyd ist nicht zu beobachten.

3. Die optimale Acetaldehydkonzentration der Nährlösung beträgt unter den Versuchsbedingungen 0,032 Proz., bei dieser Konzentration ist sowohl im Hellen wie im Dunkeln der Stärkegehalt am höchsten; er ist bei dieser Konzentration auch höher als vor dem Versuch.

4. Die Acetaldehydkonzentration der Nährlösung von 0,032 Proz. schädigt pflanzliche Fermente auch bei längerer Einwirkung nicht; erst die Konzentrationen 0,064 und 0,128 Proz. schädigen bei längerer Einwirkung die pflanzlichen Fermente.

5. Während der ersten Zeit der Einwirkung erhöht Acetaldehyd in den Konzentrationen von 0,001 bis 0,128 Proz. die Gasentwicklung durch die Assimilation, was auf eine Stimulation schließen läßt. Diese Stimulation steht in Übereinstimmung mit den Versuchsergebnissen von *C. Neuberg* und von *K. Boresch*, nach welchen Acetaldehyd ein Stimulans für pflanzliche Lebensvorgänge ist.

Die Saccharosebildung in Kartoffeln während des Trocknens. I.

Von

C. J. de Wolff.

(Aus dem Laboratorium für chemische Technologie der Technischen Hochschule zu Delft.)

(Eingegangen am 12. Juli 1926.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Die Kartoffeltrocknerei in Deutschland, obschon wiederholt propagiert und als gewinnbringend beschrieben[1]), treibt ein dürftiges Wesen. Es hat aber den Anschein, als ob sie nur einer kleinen Verbesserung bedürfte, um lohnend zu werden. Diese könnte vielleicht bestehen in der Gewinnung der Saccharose, welche nach *Waterman*[2]) beim Trocknen von Kartoffelscheiben auftritt, womit man sich ein bedeutendes Nebenprodukt verschaffen würde. Es war das Ziel der vorliegenden Arbeit, zu ermitteln, wieweit sich diese Saccharosebildung treiben läßt, und es wurden deswegen die Faktoren studiert, welche die Erscheinung beeinflussen. Die Arbeit ist hier unten im Auszug wiedergegeben. Näheres wäre im Original einzusehen.

Die Umwandlung der Kohlehydrate in der Kartoffelknolle.

Unter normalen Verhältnissen spielen sich Stärke- und Zuckerbildung in deutlich erkennbarer Weise in der Kartoffel nur während der Entwicklungsperiode und zur Zeit des Sprießens ab. Es

[1]) *Parow*, Handb. d. Kartoffeltrocknerei 1907; Die Deutsch. Zuckerind. 50, 779, 1925.

[2]) Chem. Weekblad **11**, 332, 1914.

läßt sich aber in den Knollen während der Ruheperiode (d. h. die Zeit zwischen Ernte und Aussaat) eine künstliche Zuckerbildung herbeiführen, so reichlich, daß der Zuckergehalt weit über den beim Sprießen erreichten Betrag hinausgeht. Solche Zuckeranhäufung findet statt infolge längerer Einwirkung niederer Temperatur (0 bis 10°) oder auch beim Trocknen von Kartoffelscheiben zwischen 30 und 40°.

Die Erklärung des „süß werdens" der Kartoffeln bei niedriger Temperatur, die von *Müller-Thurgau* auf Grund seiner klassischen Untersuchungen[1]) aufgestellt worden ist, dürfte allgemein bekannt sein. Zuckerbildung in Kartoffeln während des Trocknens wurde zum ersten Male beobachtet von *Marcacci*[2]), der in Kartoffeln, welche bei ± 45° oder „in der Sonne" getrocknet worden waren, Saccharose fand, welcher Zucker im ursprünglichen Material nicht nachgewiesen war. Er begnügte sich aber mit dieser bloßen Mitteilung, welche in Vergessenheit geriet.

Unabhängig von ihm deckte *Waterman* im Jahre 1914 die Erscheinung wieder auf[3]); dieser stellte mehrere Versuche an, deren Resultate folgende sind[4]):

Beim Trocknen von Kartoffelscheiben findet nur ein Ansteigen des Saccharosegehalts statt, und zwar sehr schnell im Vergleich mit der Zuckerbildung bei niederer Temperatur. Bei ± 35° ist die Steigung des Zuckergehalts am größten und erreicht im günstigsten Falle ± 3 Proz. des ursprünglichen Kartoffelgewichts. Bei höheren Temperaturen wird die Saccharosebildung geringer, um bei 100° ganz auszubleiben. In jungen (eben ausgegrabenen) Kartoffeln ist beim Trocknen unter gleichen Verhältnissen die Zuckerbildung weniger ausgiebig als in älteren. Kartoffeln, welche durch die Einwirkung von Alkohol oder sehr niedriger Temperaturen (flüssiger Luft) getötet sind, zeigen die Erscheinung nicht. *Waterman* versuchte die Zuckerbildungen, welche bei niedriger Temperatur und beim Trocknen auftreten, im Zusammenhang miteinander zu betrachten. Dazu machte er die Annahme, daß die beiden Vorgänge: Stärke → Saccharose und Saccharose → Stärke sich gleichzeitig in der Kartoffel abspielen, und zwar daß die Geschwindigkeit der ersten Reaktion am größten ist zwischen 35 und 40°, während sie bei höherer und niederer Temperatur langsam abnimmt; ein Verlauf also, dem man gewöhnlich bei enzymatischen Prozessen begegnet. Die Geschwindigkeit der zweiten Reaktion soll aber ihr Maximum erreichen

---

[1]) Zeitschr. f. wiss. Landw. **11**, 751 bis 828, 1882.
[2]) *P. V. Pisa* **7**, 28; Referat in Justs Jahresber. **1**, 47, 1891.
[3]) Chem. Weekblad **11**, 332, 1914.
[4]) Ebendaselbst **12**, 48, 552, 924, 1915; **13**, 122, 578, 1916; **16**, 1230, 1919.

bei der Temperatur, bei der sich die Entwicklung der Kartoffel schnell vollzieht, also zwischen 15 und 20°; diese Geschwindigkeit fällt an beiden Seiten des Maximums schnell herab. Diese Anschauung ist in Abb. 1 dargestellt worden[1]).

Die Abb. 1 bringt zum Ausdruck, daß zwischen 10 und 30° die Stärkebildung am größten ist; Kartoffeln, die bei dieser Temperatur aufbewahrt werden, müssen also ihren Stärkegehalt erhöhen. An beiden

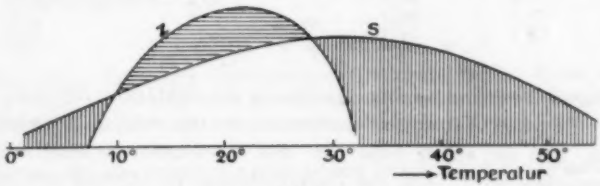


Abb. 1.
S = Zuckerbildung. Z = Stärkebildung.

Seiten dieses Temperaturgebietes wird Zuckerbildung auftreten, weil hier die Geschwindigkeit der Reaktion Stärke → Saccharose überwiegt. Es wird also die von *Müller-Thurgau* studierte Erscheinung erklärt, ohne die Atmung in die Betrachtung hineinzuziehen.

Anläßlich dieser Theorie ist zu bemerken, daß eine Darstellung wie die obige nur Gültigkeit besitzen kann für Kartoffeln unter sehr bestimmten Verhältnissen, vor allem was ihren Zuckergehalt betrifft. Es ist die Geschwindigkeit der Stärke- und der Zuckerbildung nicht nur von der Temperatur abhängig, sondern auch vom Zuckergehalt der Kartoffel. Unterhalb 10° z. B. wird die Zuckerbildung nur so lange vorherrschen, bis ein bestimmter Zuckergehalt erreicht ist; anderenfalls würde sich schließlich bei niederer Temperatur alle Stärke in Zucker verwandeln, was den von *Müller-Thurgau* gefundenen Tatsachen widerspricht. Auch ist die überwiegende Stärkebildung in wachsenden Kartoffelknollen nicht nur der Temperatur, bei der sie sich entwickeln, zuzuschreiben, sondern auch ihrem hohen Zuckergehalt, die Folge der fortwährenden Zufuhr dieses Stoffes.

Desgleichen bezieht sich die von *Waterman* zitierte[2]), von *Müller-Thurgau* beobachtete, vorherrschende Stärkebildung bei 20 bis 30° auf Kartoffeln, deren Zuckergehalt mittels vorangegangener Abkühlung stark gesteigert war. In normalen Kartoffeln findet zwischen 10 und 20° weder überwiegende Zucker- noch Stärkebildung statt; es herrscht

[1]) Ebendaselbst **13**, 579, 1916.
[2]) Chem. Weekblad **11**, 332, 1914.

offenbar Gleichgewicht. Damit die obige Darstellung Gültigkeit besitze für normale Kartoffeln, soll sie also wie folgt aussehen:

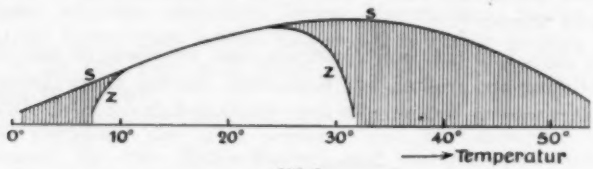


Abb. 2.
S = Zuckerbildung. Z = Stärkebildung.

Obgleich auch ohne diese Änderung die Erklärung den von *Waterman* gefundenen Tatsachen entspricht, werden wir im folgenden bemerken, daß sie schon bald von den Resultaten weiterer Versuche widersprochen wird. Um die Zuckerbildung bei höherer und niederer Temperatur zu umfassen, wäre es meines Erachtens besser, sich der Erklärung *Müller-Thurgaus* anzuschließen und den weiteren Ausbau dieser Theorie zu versuchen, weil es bisher keine Beobachtungen gibt, die mit ihr in Widerspruch stehen.

Es fragt sich aber, ob man einer solchen Erklärung bedarf, weil die in den beiden Fällen gebildeten Zucker voneinander verschieden sind und das Geschwindigkeitsverhältnis beider Zuckerbildungen, auch unter Berücksichtigung der Temperaturdifferenz, so groß ist, daß man die Identität beider Reaktionen in Zweifel ziehen muß.

Es wurde schon von anderer Seite (Frl. *Huizinga* und *de Vries*)[1] darauf hingewiesen, daß aus den Versuchen *Müller-Thurgaus* nicht hervorgeht, daß hauptsächlich Saccharose gebildet wurde [wie es auch von *Czapek*[2]) aufgefaßt worden ist]. Diese beiden Forscher wiederholten auch einige Versuche *Watermans*, ohne Zuckerbildung nachweisen zu können. Im Anschluß hieran kann ich erklären, daß ich bei Hunderten von Kartoffeln, die von mir in den letzten 3 Jahren in dieser Hinsicht untersucht wurden, nicht einmal das Ausbleiben der Saccharosebildung habe feststellen können.

Die Analysenmethoden.

Was die Analysenmethoden anbetrifft, sei hier nur erwähnt, daß der Saccharosegehalt der Kartoffeln errechnet wurde aus den jodometrischen Zuckerbestimmungen[3]) mittels *Fehling*scher Lösung vor und nach der Inversion. Auf diese Weise findet man genau denselben Gehalt, als wenn man die *Herzfeld*sche Methode der doppelten Polarisation in der Modifi-

[1]) Chem. Weekblad **12**, 268, 1915.
[2]) Biochemie der Pflanzen, 3. Aufl., 1. Teil, S. 465.
[3]) *Schoorl*, Chemisch Weekblad **9**, 687, 1912.

kation *Staneks*[1]) anwendet, was dafür spricht, daß der invertierbare Zucker in der Kartoffel nur aus Saccharose besteht. Dies wird von der folgenden Tabelle gezeigt.

Menge ursprüngl. Kartoffel, bis 100 ccm aufgefüllt g	Polarisation der Lösung in *Ventzke*-Graden	Polarisation der 1:1 verdünnten Lösung nach der Inversion	Saccharosegehalt der Kartoffel nach	
			Stanek	*Schoorl*
29,7	2,24	—0,22	1,76	1,70
25,8	1,94	—0,30	1,92	1,87
26,6	3,02	—0,24	2,57	2,51
26,8	2,02	—0,26	1,85	1,89
29,2	1,90	—0,10	1,41	1,44

Es wurden Kartoffeln verschiedener Herkunft für die Versuche verwendet. Bald zeigte sich, daß Exemplare ein und derselben Partie nicht besser in Eigenschaften übereinstimmten, als solche verschiedener Marken. Deswegen ist die Angabe der Herkunft bei den zu beschreibenden Versuchen unterlassen. Die Zuckergehalte sind immer bezogen auf die ursprüngliche Kartoffel.

Wiederholung der Versuche Watermans.

Es wurde anfangs versucht, die Resultate *Watermans* zu bestätigen. Dazu bereitete ich aus acht in Scheiben geschnittenen Kartoffeln acht Durchschnittsmuster, die bei verschiedenen Temperaturen getrocknet wurden. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt worden.

Trockensubstanz: 28,2 Proz.

Nr.	Gewicht der Proben g	Gewichtsverlust während des Versuchs Proz.	Trockentemperatur °C	Dauer des Trocknens Stunden	Zuckergehalt: Reduz. Zucker Proz.	Zuckergehalt: Saccharose Proz.	Zunahme des Saccharosegehalts Proz.
1	63,16	71,9	16—18	280	0,93	1,70	1,39
2	67,96	71,1	30,5	32	0,65	1,64	1,33
3	55,60	71,6	35,0	24	0,50	1,57	1,26
4	60,60	71,5	40,8	22	0,63	1,44	1,13
5	51,60	71,4	45,5	20	0,39	1,17	0,86
6	55,37	72,0	46,0	20	0,79	1,16	0,85
7	69,46	70,3	59,0	14½	0,68	0,86	0,55
8	63,82	69,4	98—100	6	0,80	0,52	0,21
9	Ursprüngl. Kartoffel		—	—	0,62	0,31	—

Eine Wiederholung des Versuchs gab die folgenden Resultate:

Trockensubstanz: 27,9 Proz.

1	74,41	68,6	36,0	34	0,65	2,12	1,51
2	78,73	67,4	40,5	20	0,75	2,07	1,46
3	69,26	67,8	47,1	23	0,57	1,77	1,16
4	72,53	67,7	66,5	8½	0,69	1,13	0,52
5	73,64	69,4	94,0	6	0,84	0,82	0,21
6	Ursprüngl. Kartoffel		—	—	0,80	0,61	—

[1]) Z. Böhmen 39, 421, 1914/15.

Ganz im Einklang mit den *Watermans*chen Resultaten finden wir die Saccharosebildung desto größer, je nachdem bei niedrigerer Temperatur getrocknet worden ist. Die erste Tabelle zeigt aber, daß das Maximum der Zuckerbildung nicht zwischen 30 und 40° liegt. Vielmehr zeigt sich die Regelmäßigkeit: „je niedriger die Trockentemperatur, um so mehr Saccharose" für das ganze Temperaturgebiet zwischen 16 und 100°. Dies würde der auf S. 226 genannten Erklärung widersprechen.

Beim Trocknen bei 100° blieb nach *Waterman* die Saccharosebildung aus. Hier wurde eine geringe Zunahme des Saccharosegehalts gefunden (s. Tabelle Nr. 8), die aber durch die Tatsache erklärt werden kann, daß die Scheiben nicht schnell genug diese Temperatur annehmen, so daß schon Saccharose gebildet worden ist, bevor 100° erreicht sind.

Bemerkenswert ist der unregelmäßige Verlauf des Gehalts an reduzierendem Zucker. Offenbar ist dieser von anderen Faktoren abhängig als der Saccharosegehalt, wie dies gezeigt wird von den Nr. 5 und 6 der ersten Tabelle. Diese Proben sind unter gleichen Verhältnissen getrocknet worden; dementsprechend sind ihre Saccharosegehalte einander gleich. Ihr Unterschied im reduzierenden Zuckergehalt ist aber sehr beträchtlich.

Die in der nächsten Tabelle aufgeführten Resultate geben ein Bild der saccharosebildenden Kraft der Kartoffel im Zusammenhang mit ihrem Alter.

Trockentemperatur 35 bis 40°.

Datum des Versuchs 1922	Erntejahr	Trockensubstanz	Zuckergehalt				Zunahme des Saccharosegehalts
			Ursprüngliche Kartoffel		Getrocknete Kartoffel		
			Reduz. Zucker	Saccharose	Reduz. Zucker	Saccharose	
		Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	
8. V.	1921	28,2	0,62	0,31	0,50	1,57	1,26
27. V.	1921	32,1	0,40	0,93	0,45	2,80	1,87
29. VII.	1922 (unreif)	20,3	0,38	0,82	0,26	3,11	2,29
4. VIII.	1922 „	20,5	0,58	0,58	0,37	2,50	1,92
10. VIII.	1922 „	21,2	0,38	0,31	0,28	1,51	1,20
2. IX.	1922 (reif)	23,2	0,03	0,44	0,06	1,38	0,94
25. X.	1922 „	22,3	0,21	0,15	0,18	1,34	1,19

Diese Versuche wurden angestellt mit einer Partie Kartoffeln und mit deren Abkömmlingen. Wir finden die Beobachtungen *Watermans* bestätigt, daß alte Kartoffeln (8. und 27. Mai) größere saccharosebildende

Kraft besitzen als junge (2. September), und daß dieses Vermögen zunimmt während der Ruheperiode (2. September und 25. Oktober).

Auffallend ist die reiche Saccharosebildung der unreifen Kartoffeln (29. Juli), weil doch während der Entwicklungsperiode fortwährend Stärkebildung stattfindet und man deswegen zwar viel stärkebildendes Enzym, aber keine stärkeabbauenden Fermente in der unreifen Kartoffel erwarten würde. In späteren Jahren blieb dann auch die Saccharosebildung unreifer Kartoffeln stark hinter jenem in älteren zurück.

Die Ursache der Saccharosebildung.

Wenn man versuchen will, die Ursache der Saccharosebildung, die während des Trocknens in Kartoffelscheiben auftritt, ausfindig zu machen, dann soll man sich bewußt sein, daß bei den Versuchen *Watermans* die Kartoffel immer drei Änderungen erlitten hat, nämlich:

1. das Schneiden, also: verwunden;
2. die Einwirkung höherer Temperatur;
3. der Wasserverlust.

Jede dieser Änderungen kann allein oder teilweise Ursache der Erscheinung sein; um ihre Einflüsse gesondert kennenzulernen, wurde die Saccharosebildung studiert, die von den Faktoren einzeln, d. h. mit Ausschluß beider anderen, hervorgerufen wird.

Einfluß des Verwundens.

Aus einer Kartoffel, die bei 10° gelagert hatte, wurden auf die schon erwähnte Weise vier Proben geschnitten. Eine dieser wurde unmittelbar nach dem Schneiden analysiert, eine wurde zur Trockensubstanzbestimmung verwendet, die beiden anderen wurden in feuchten Stöpselflaschen aufbewahrt und nach einiger Zeit untersucht. Die folgende Tabelle gibt die Resultate:

Trockensubstanz: 24,2 Proz.

Nr.	Gewicht der Proben g	Gewichtsverlust während des Versuchs Proz.	Dauer des Versuchs Stunden	Zuckergehalt	
				Reduz. Zucker Proz.	Saccharose Proz.
1	12,28	—	0	0,06	0,28
2	12,28	0,2	24	0,09	0,36
3	12,49	2,3	24	0,14	0,45

Der Versuch wurde mit fünf Proben wiederholt. Die Flasche, welche die Probe Nr. 4 enthielt, wurde nach 52 Stunden geöffnet (so

daß von diesem Moment an die Scheiben zu trocknen anfingen), um festzustellen, daß bei Verlust von Wasser die Saccharosebildung viel deutlicher an den Tag tritt. Die Resultate sind die folgenden:

Trockensubstanz: 25,2 Proz.

Nr.	Gewicht der Proben g	Gewichtsverlust während des Versuchs Proz.	Dauer des Versuchs Stunden	Zuckergehalt	
				Reduz. Zucker Proz.	Saccharose Proz.
1	14,61	—	0	0,09	0,10
2	14,82	0,3	25	0,11	0,29
3	15,14	0,2	52	0,23	0,27
4	14,90	11,6	126	0,48	0,70

Trotz des Aufbewahrens in feuchten Flaschen sind bei beiden Versuchen die Kartoffeln ein wenig ausgetrocknet. Beim ersten Versuch ist aber der Unterschied an Saccharosegehalt der Nr. 2 und 3 0,09 Proz., der Unterschied an Wassergehalt 2,1 Proz. Hieraus berechnet man den Saccharosegehalt ohne Austrocknung nach 24 Stunden auf $0{,}36 - \frac{0{,}2}{2{,}1} \cdot 0{,}09 = 0{,}35$ Proz. Auf Rechnung der Verwundung muß man also eine Zunahme von $0{,}35 - 0{,}28 = 0{,}07$ Proz. stellen. Beim zweiten Versuch ist die Verwundung Ursache einer Zunahme von $\pm$ 0,2 Proz.; zugleich sehen wir hier, daß die Zunahme nach 24 Stunden aufhört (Nr. 2 und 3), indem Nr. 4 beweist, daß durch Erniedrigung des Wassergehalts der Saccharosegehalt viel stärker ansteigt. Die Verwundung ist also nicht ganz ohne Einfluß; sie kann aber keinesfalls die Ursache der großen Steigung des Saccharosegehalts sein, die bei den Trockenversuchen innerhalb kurzer Zeit beobachtet wird.

Es kann nicht wundernehmen, daß die Verwundung allein schon imstande ist, Zuckerbildung zu veranlassen. Wird doch die Atmung durch Verwundung intensiver[1]), weswegen es sich denken läßt, daß von letzterer die Zuckerbildung zu erhöhter Tätigkeit gereizt wird, um den größeren Zuckerverbrauch zu decken. Dann kommt aber die Frage auf, ob das Aufhören der Zuckerbildung nach 24 Stunden nicht dem Aufbewahren in verschlossenen Flaschen, also Sauerstoffmangel, zuzuschreiben ist, und ob die Zuckerbildung nicht länger fortschreiten würde beim Aufbewahren ohne Austrocknung, aber unter fortwährender Zufuhr frischer Luft. Später wurde darum noch ein Versuch angestellt, wobei während des Aufbewahrens mit Wasserdampf gesättigte Luft

[1]) *Czapek*, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., 3. Teil, S. 41.

durch die Flaschen geleitet wurde. Man ersieht aus den nachfolgenden Resultaten, daß auch in diesem Falle die Saccharosebildung infolge des Verwundens bald aufhört.

Nr.	Gewicht der Proben g	Gewichtsverlust während des Versuchs Proz.	Dauer des Versuchs Stunden	Temperatur während des Aufbewahrens ° C	Zuckergehalt: Reduz. Zucker Proz.	Zuckergehalt: Saccharose Proz.
1	13,91	—	0	12	0,12	0,24
2	14,46	0,3	24	12	0,12	0,35
3	14,85	0,3	50	12	0,13	0,37
4	14,08	0,4	24 (Luft)	12	0,13	0,35
5	14,25	0,5	50 (Luft)	12	0,13	0,35

Einfluß der Temperatur und des Wasserverlustes.

Schon die auf S. 230 beschriebenen Versuche weckten den Eindruck, daß die Saccharosebildung von höheren Temperaturen nicht fördernd beeinflußt wird. Dies wird von den folgenden Resultaten bestätigt.

Es wurden drei Proben geschnitten, herrührend von fünf Kartoffeln; die erste wurde unmittelbar nach dem Schneiden untersucht, die zweite bei 35° im Trockenschrank getrocknet, während die dritte ebensolange wie die zweite im Trockenschrank verweilte, aber in einer feuchten Flasche geschlossen, so daß Austrocknen unmöglich war.

Nr.	Gewicht der Proben g	Gewichtsverlust während des Versuchs Proz.	Dauer des Versuchs Stunden	Temperatur während des Aufbewahrens ° C	Zuckergehalt: Reduz. Zucker Proz.	Zuckergehalt: Saccharose Proz.
1	32,46	ursprüngliche Kartoffel			0,83	1,22
2	35,38	67,8	24	35	0,76	2,80
3	33,92	0,9	24	35	0,44	1,12

Der Versuch wurde wiederholt:

1	12,38	ursprüngliche Kartoffel			0,12	0,21
2	12,75	1,0	10	40	0,12	0,24
3	13,14	0,5	24	40	0,09	0,11
4	13,20	70,8	24	40	0,09	1,42

Bei einem folgenden Versuch wurde wie folgt verfahren:

Von vier Proben wurde Nr. 1 sofort untersucht; Nr. 2, 3 und 4 wurden bei 36° während 5 Stunden getrocknet; dann wurde Nr. 2 analysiert, Nr. 3 in eine Flasche geschlossen und wieder in den Trocken-

schrank gestellt, so daß weiteres Austrocknen vermieden ward, während Nr. 4 im Trockenschrank verblieb bis zur völligen Austrocknung.

Nr.	Gewicht der Proben	Gewichtsverlust während des Versuchs	Dauer des Versuchs	Temperatur während des Aufbewahrens	Zuckergehalt	
					Reduz. Zucker	Saccharose
	g	Proz.	Stunden	° C	Proz.	Proz.
1	35,75	ursprüngliche Kartoffel			0,47	1,55
2	36,48	13,3	5	36	0,34	2,04
3	37,80	13,2	5 + 31	36	0,19	1,55
4	37,75	63,6	36	36	0,29	2,53

Die Tabellen lassen sich dahin zusammenfassen, daß Aufenthalt bei höherer Temperatur ohne gleichzeitiges Austrocknen den Saccharosegehalt erniedrigt. Dies wird vor allem in der letzten Tabelle gezeigt. Während in Nr. 2 (und also auch in den Nr. 3 und 4) innerhalb 5 Stunden 2,04 — 1,55 = 0,49 Proz. Saccharose gebildet waren, verschwindet diese Menge bei derselben Temperatur in 31 Stunden, wenn man das Austrocknen verhindert (Nr. 3); läßt man die Austrocknung aber fortschreiten, dann bilden sich in 31 Stunden noch 2,53 — 2,04 = 0,49 Proz. Saccharose.

Wir können also daraus schließen, daß der dritte der obengenannten Faktoren, der Wasserverlust, der hauptsächliche Grund der Saccharosebildung bei den *Watermans*chen Versuchen ist.

Versuche mit Kartoffelbrei.

Eine große Schwierigkeit beim Anstellen von Parallelversuchen mit Kartoffeln liegt in der Tatsache, daß die Methode des Schneidens der Proben keine absolute Sicherheit gewährt für ihre genaue Übereinstimmung in Zusammensetzung und Eigenschaften. Diese Schwierigkeit ließe sich beseitigen, wenn die Bildung von Saccharose auch im Kartoffelbrei auftrete, weil es dann sehr leicht gelingen würde, ein Durchschnittsmuster der zerstampften Kartoffeln herzustellen. Es wurden daher einige Versuche angestellt, wobei die Fähigkeiten zur Saccharosebildung von Scheiben und Brei derselben Kartoffel unter gleichen Verhältnissen miteinander verglichen wurden.

Nr.	Gewicht der Proben	Zustand der Kartoffel	Gewichtsverlust während des Trocknens	Dauer des Trocknens	Temperatur während des Trocknens	Zuckergehalt	
						Reduz. Zucker	Saccharose
	g		Proz.	Stunden	° C	Proz.	Proz.
1	25,38	Brei	73,0	28	35	0,36	0,40
2	29,38	Scheiben	73,1	28	35	0,49	2,08
3	ursprüngliche Kartoffel			—	—	0,54	0,55

Nr. 2 zeigt, daß die Kartoffel ganz gut zur Saccharosebildung befähigt ist. Trotzdem hat der Saccharosegehalt des Breies um ein wenig abgenommen. Es wäre immerhin möglich, daß im Brei von fremden Organismen Zucker verzehrt wird; um dies auszuschließen, wurde der Versuch später wiederholt mit Zusatz von 1 Proz. Tohuol. Dieser Kohlenwasserstoff wirkt desinfizierend, ohne die Enzyme zu lähmen[1]). In diesem Falle bestimmte ich nur den Gehalt an reduzierendem Zucker nach der Inversion: Gehalt der ursprünglichen Kartoffel 0,40 Proz., Gehalt des bei 35° getrockneten Breies (mit 1 Proz. Tohuol) 0,40 Proz. Es wird also von Kartoffelbrei beim Trocknen keine Saccharose gebildet. Dies wurde später noch einige Male bestätigt.

Der Verlauf der Saccharosebildung.

Um einen Eindruck zu bekommen von der Geschwindigkeit der Saccharosebildung während des Trocknens, wurden die folgenden Versuche angestellt:

Aus einigen Kartoffeln wurden wieder einige gleichartige Proben geschnitten. Diese wurden zugleich in den Trockenschrank gebracht und nach verschiedenen Zeiten analysiert. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt:

Nr.	Gewicht der Proben	Gewichtsverlust während des Trocknens	Dauer des Trocknens	Temperatur während des Trocknens	Zuckergehalt		Zunahme des Saccharosegehalts pro Stunde seit Anfang des Versuchs	Zunahme d. Saccharosegehalts pro Proz. Wasserverlust seit Anfang d. Versuchs
					Reduz. Zucker	Saccharose		
	g	Proz.	Stunden	° C	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
1	28,17	—	0	—	0,32	0,38	—	—
2	26,90	6,0	1	40	0,32	0,40	0,02	0,003
3	26,47	12,3	2	40	0,29	0,46	0,04	0,006 5
4	27,28	18,6	3	40	0,30	0,52	0,05	0,007 5
1	28,58	—	0	—	0,34	0,31	—	—
2	27,48	8,5	$1^1/_2$	40	0,30	0,40	0,06	0,010 6
3	27,26	16,6	3	40	0,27	0,46	0,05	0,009
4	27,71	27,2	$4^1/_2$	40	0,23	0,62	0,07	0,011 5
1	19,70	—	0	—	0,30	0,23	—	—
2	24,95	17,2	$4^1/_2$	40	0,27	0,45	0,05	0,013
3	24,47	31,7	6	40	0,24	0,56	0,055	0,010 5
4	24,00	37,0	$7^1/_2$	40	0,23	0,68	0,06	0,012
5	24,38	39,0	9	40	0,22	0,68	0,05	0,011 5

[1]) *E. Fischer*, B. 27, 2985, 1894.

Die Saccharosebildung fängt also an, sobald die Proben in den Trockenschrank hineingestellt sind, und der Gehalt bleibt im Steigen, je nachdem die Austrocknung fortschreitet. Es zeigt aber die Saccharosebildung pro Stunde und pro Prozent Wasserverlust in den drei Tabellen nicht denselben Verlauf. Dieser Unregelmäßigkeit wurde auch bei weiteren Versuchen begegnet. Ihre Erklärung fand ich schließlich in der Tatsache, daß die verschiedenen Proben im Trockenschrank nicht gleichmäßig austrocknen, zum Teil ihrer ungleichen Oberfläche zufolge, zum Teil auch, weil Temperatur und Lüftung im Trockenschrank nicht an allen Stellen dieselben sind. Demzufolge verläuft auch die Bildung der Saccharose in den verschiedenen Proben nicht parallel, so daß z. B. die Proben Nr. 3, 4 und 5 in dem Moment, wenn Nr. 2 herausgenommen wird, nicht denselben Saccharosegehalt besitzen wie Nr. 2. In diesem Falle zeigen die Ergebnisse natürlich nicht den wahren Verlauf der Saccharosebildung.

Um den Einfluß zu verfolgen, der von ungleichen Wasserverlusten beim Trocknen während gleicher Zeit ausgeübt wird, wurden einige Versuche angestellt, wobei die Proben gleich lang im Trockenschrank verblieben; sie wurden untersucht, bevor die Austrocknung zu Ende war. Das ungleichmäßige Austrocknen wurde bei diesen Versuchen gefördert, indem die Scheiben ungleich dick geschnitten wurden. In den nachfolgenden Tabellen sind die Resultate zusammengestellt.

Nr.	Gewicht der Proben	Gewichtsverlust während des Trocknens	Dauer des Trocknens	Temperatur während des Trocknens	Zuckergehalt	
					Reduz. Zucker	Saccharose
	g	Proz.	Stunden	° C	Proz.	Proz.
1	20,21	—	—	—	0,24	0,22
2	19,76	43,9	8	40	0,20	0,83
3	19,47	41,0	8	40	0,12	0,78
4	19,76	39,3	8	40	0,10	0,78
1	29,94	—	—	—	0,20	0,15
2	25,82	75,3	21	36	0,19	0,94
3	25,05	73,3	21	36	0,19	1,06
4	26,75	65,2	21	36	0,17	1,34
1	21,42	—	—	—	0,04	0,20
2	20,29	38,9	10	34	0,04	0,87
3	20,74	48,7	10	34	0,05	1,01
4	21,01	52,5	10	34	0,05	0,91
1	20,40	—	—	—	0,08	0,26
2	21,33	39,5	9	35	0,07	0,98
3	20,86	48,4	9	35	0,07	1,31
4	20,57	58,0	9	35	0,08	1,04

In Abb. 3 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt worden.

Besieht man diese Darstellung, dann hat es auf den ersten Blick den Anschein, als ob der Saccharosegehalt mit dem Zunehmen des Wasserverlustes ansteigt, bis letzterer $\pm$ 50 Proz. erreicht hat, um dann bei weiterem Austrocknen wieder abzunehmen. Dies ist nicht sehr wahrscheinlich. Noch sonderbarer mutet es an, daß, nach dem Versuch vom 25. Oktober zu urteilen, diese Abnahme sich auch noch vollziehen würde während des Steigens des Wasserverlustes von 65 auf 75 Proz., es ist ja eine Kartoffel, die 65 Proz. Wasser verloren hat, so weit ausgetrocknet, daß Stärke-

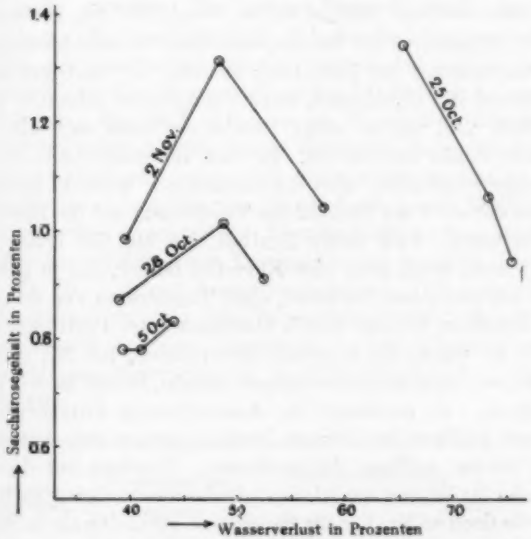


Abb. 3.

bildung sowie Stärkespaltung unmöglich sind. Man würde daher vielmehr erwarten, die Saccharosemengen bei 65, 73 und 75 Proz. Wasserverlust einander gleich zu finden. Halten wir an dieser Annahme fest, daß bei einem Wasserverlust oberhalb 65 Proz. keine Saccharosebildung mehr möglich ist, dann geht hieraus hervor, daß die Proben Nr. 2 und 3 vom 25. Oktober in dem Moment, da sie 65 Proz. Wasser verloren hatten, schon den durch Analyse gefundenen Saccharosegehalt besaßen (0,94 und 1,06 Proz.). Berücksichtigen wir noch, daß die Probe Nr. 4 bei einem Wasserverlust von 65 Proz. 1,34 Proz. Saccharose enthielt, dann kommen wir zu dem Schluß, daß die Saccharosemengen in diesen drei Proben, im Moment, wo sie 65 Proz. Wasser verloren

hatten, in umgekehrtem Verhältnis standen zu ihren Austrocknungsgeschwindigkeiten. Auf diese Weise werden wir zu der Annahme geführt, daß die Saccharosebildung von der Austrocknung überholt worden ist: je früher der Wasserverlust erreicht ist, bei dem die Umwandlungen infolge zu starker Austrocknung aufhören, je niedriger der Saccharosegehalt der Proben gefunden wird.

Diese Auffassung erklärt nun auch in befriedigender Weise den Lauf der Kurven, welche die Versuche vom 28. Oktober und vom 2. November vorstellen. Dazu muß man nur den „toten Punkt" von 65 Proz. nach 50 Proz. Wasserverlust verschieben, was sehr wohl möglich ist, denn der Gehalt an Trockensubstanz einer normalen Kartoffel, die 50 Proz. Wasser verloren hat, ist schon bis $\pm$ 50 Proz. gestiegen.

Auch die Ergebnisse der Trockenversuche bei verschiedenen Temperaturen stimmen mit der Erklärung überein. Je niedriger die Temperatur während des Trocknens, um so langsamer schreitet die Austrocknung fort, und um so mehr Saccharose kann sich also bilden, bevor der tote Punkt erreicht ist. Bei den *Waterman*schen Versuchen war der Temperatureinfluß also ein sekundärer, wiewohl natürlich in der Nähe von 40° auch der Einfluß der Temperatur auf die Enzyme eine Rolle spielen wird. Daß dieser Einfluß sich auf die Dauer geltend macht, zeigt sich, wenn man eine Kartoffel länger, als es gewöhnlich bei den Trockenversuchen geschieht, einer Temperatur von 40° aussetzt. Aus zwei Kartoffeln wurden durch Halbieren zwei Portionen bereitet. Die erste Probe wurde in Scheiben zerschnitten, bei 35° getrocknet. Die zweite wurde, ohne weiter zerkleinert zu sein, bei 40° in den Trockenschrank gestellt. Je nachdem die Austrocknung fortschritt, wurde von den zwei Hälften der letzten Portion immer eine Scheibe weggenommen, bis zur völligen Austrocknung. Obschon auf diese Weise die erste Probe ihr Wasser natürlich viel schneller verloren hatte, als die zweite, wurde doch in Nr. 1 mehr Saccharose gefunden als in Nr. 2, was beweist, daß längere Einwirkung höherer Temperatur die Saccharosebildung beeinträchtigt, wie dies auch schon auf S. 236 festgestellt wurde.

Nr.	Gewicht der Proben	Gewichtsverlust während des Trocknens	Dauer des Trocknens	Temperatur während des Trocknens	Zuckergehalt	
					Reduz. Zucker	Saccharose
	g	Proz.	Stunden	° C	Proz.	Proz.
1	41,02	75,3	23	35	0,50	1,69
2	43,43	75,2	78	40	0,61	1,41

Der letzte Versuch wurde angestellt mit dem Ziele, die Richtigkeit der soeben genannten Auffassung zu beweisen. Es ließ sich erwarten,

daß Nr. 2, trotz der höheren Trockentemperatur, mehr Saccharose bilden würde als Nr. 1. Dies würde im Widerspruch stehen mit den Beobachtungen *Watermans*, aber es ließe sich erklären durch die Tatsache, daß Nr. 2 über mehr Zeit für die Saccharosebildung verfügte. Weil das Resultat des Versuchs nicht der Erwartung entsprach, wurde ein anderer Weg eingeschlagen. Die Voraussetzung, daß während des Trocknens die Saccharosebildung hinter dem Wasserverlust zurückbleibt, daß also in jedem Moment der maximale Saccharosegehalt noch nicht erreicht ist, der sich kraft des Wasserverlustes in der Kartoffel vorfinden kann, verlangt, daß eine teilweise ausgetrocknete Kartoffelscheibe noch zur Saccharosebildung befähigt ist, auch wenn man ihr kein Wasser mehr entzieht. Ein solcher Versuch wurde zwar schon beschrieben, und hierbei erniedrigte sich der Saccharosegehalt nach dem Einstellen der Austrocknung; auf Grund des soeben beschriebenen Versuchs ist aber diese Erniedrigung dem Einfluß der hohen Temperatur zuzuschreiben. Es fragt sich also, ob Saccharosebildung stattfindet, wenn eine teilweise ausgetrocknete Kartoffelscheibe bei Zimmertemperatur aufbewahrt wird, ohne daß weitere Austrocknung möglich ist. Um diese Frage zu beantworten, wurde der folgende Versuch angestellt: Vier in Scheiben geschnittene Durchschnittsproben einer Kartoffelknolle wurden bei 45° in den Trockenschrank gestellt. Nach 3 Stunden wurden die Nr. 1, 2 und 3 herausgenommen. Die erste wurde analysiert, die beiden anderen bei Zimmertemperatur in feuchten Flaschen aufbewahrt und nachher untersucht. Die vierte Probe verblieb bis zur völligen Austrocknung im Trockenschrank. Die Resultate sind folgende:

Nr.	Gewicht der Proben	Gewichtsverlust während des Trocknens	Dauer der Behandlung		Zuckergehalt	
			bei 45°	bei 16°	Reduz. Zucker	Saccharose
	g	Proz.	Stunden	Stunden	Proz.	Proz.
1	20,24	24,5	3	0	0,14	0,49
2	19,81	24,5	3	10	0,13	0,73
3	20,00	24,5	3	20	0,12	0,89
4	20,07	73,4	11	0	0,16	0,94

Die Frage ist also bejahend beantwortet. Nach 20stündigem Aufbewahren bei 16° ist der Saccharosegehalt nahezu eben so hoch wie der in der bei 45° vollständig getrockneten Probe, und es hat den Anschein, als ob der Gehalt einem Endwert zustrebt, der aber offenbar nach 20 Stunden noch nicht erreicht ist.

Durch Bestimmung dieses Endwertes in Teilen derselben Kartoffel, welche auf verschiedenen Wegen gleich viel Wasser verloren haben,

kann man nun, besser als bis jetzt der Fall war, eine Vorstellung erlangen von dem Einfluß, der von verschiedenen Faktoren auf die Zuckerbildung ausgeübt wird. Schon auf S. 236 wurde gezeigt, daß es nicht möglich ist, eine Anzahl Kartoffelproben in solcher Weise zu trocknen, daß die Saccharosebildung in allen parallel geht. Wenn man zwei Proben nebeneinander trocknet, können daher nach einigen Stunden schon Unterschiede im Saccharosegehalt auftreten. Dementsprechend sagen kleine Unterschiede, welche sich *während des Trocknens* unter *ungleichen* Verhältnissen bemerkbar machen, nichts aus über den Einfluß dieser ungleichen Verhältnisse auf die Saccharosebildung. Trocknet man zwei Proben nebeneinander nur teilweise aus, bis ihre Wasserverluste einander gleich sind, und bewahrt man dann diese Proben bis zur Erreichung des Endwertes auf, dann werden sich die Unterschiede, die während des Trocknens entstanden sind, langsam ausgleichen, und die gefundenen Endwerte werden nahezu übereinstimmen. Ungleiche Verhältnisse bei der Behandlung werden sich aber, wenn sie Einfluß auf die Saccharosebildung ausüben, auch im Endwert äußern, der von den teilweise getrockneten Proben beim Aufbewahren erreicht wird. Beim Studium der Faktoren, welche Einfluß auf die Saccharosebildung ausüben, werden wir darum in der Folge nur solche Endwerte miteinander vergleichen.

Daß bei geringen Unterschieden in der Behandlung nur der endgültige Wasserverlust für die Größe des erreichten Endwertes maßgebend ist, wird von den folgenden Versuchen gezeigt. Zwei Proben wurden wie folgt behandelt und dann während dreier Tage in feuchten Flaschen aufbewahrt.

Nr. 1: 4 Stunden bei 40° getrocknet.

Nr. 2: 2 Stunden bei 30° getrocknet und weiter bei Zimmertemperatur bis zur Erreichung desselben Wasserverlustes wie Nr. 1.

Nr.	Gewicht der Proben g	Gewichtsverlust während der Behandlung Proz.	Zuckergehalt	
			Reduzierender Zucker Proz.	Saccharose Proz.
1	17,85	25,6	0,42	1,18
2	18,00	25,4	0,38	1,15

Eine Wiederholung des Versuchs gab die folgenden Resultate:

Nr. 1: 3 Stunden bei 40°.

Nr. 2: 3 Stunden bei Zimmertemperatur, 3 Stunden bei 30°, 2½ Stunden bei Zimmertemperatur.

Nr.	Gewicht der Proben g	Gewichtsverlust während der Behandlung Proz.	Zuckergehalt	
			Reduzierender Zucker Proz.	Saccharose Proz.
1	14,09	25,8	0,15	1,05
2	14,08	25,6	0,15	1,19

Einfluß der verwundeten Oberfläche auf die Saccharosebildung.

Bei den bis jetzt mitgeteilten Versuchen wurden die Scheiben immer ungefähr in gleiche Dicke geschnitten, ohne daß hierauf aber peinlich genau achtgegeben ward. Weil es, der Beziehung zwischen Verwundung und Atmung zufolge, nicht unmöglich ist, daß die verwundete Oberfläche großen Einfluß ausübt, schienen mir einige Versuche in dieser Hinsicht erwünscht. Es wurden darum aus einer Kartoffel drei Proben geschnitten wie folgt:

1. Eine Scheibe, $\pm$ 4 mm dick.
2. Zwei Scheiben, $\pm$ 2 mm dick.
3. Drei Scheiben, $\pm$ $1^1/_3$ mm dick.

Diese Proben wurden bei Zimmertemperatur getrocknet, bis zu demselben Wasserverlust ($\pm$ 12 Proz.), und dann bis zur Erreichung des Endwertes in feuchten Flaschen aufbewahrt ($\pm$ 6 Tage).

Das Resultat deutete auf einen sehr großen Einfluß der Oberfläche hin. Als der Versuch aber einige Male wiederholt wurde, stellte sich heraus, daß nicht die verschiedenen Oberflächen an dem Unterschied im Saccharosegehalt der Proben Schuld waren, sondern daß dieser von der verschiedenen saccharosebildenden Kraft der Proben verursacht wurde, denn die Gehalte der Proben liefen bei allen Versuchen parallel mit der Reihenfolge des Schneidens, wie es z. B. von der folgenden Tabelle gezeigt wird.

	1. Versuch			2. Versuch		
Dicke der Scheiben in mm und Reihenfolge beim Schneiden . .	4	2	$1^1/_3$	4	$1^1/_3$	2
Saccharosegehalt . . . . . Proz.	0,46	0,80	1,20	0,97	1,11	1,34

Auf Grund dieser großen Unterschiede zwischen Teilen ein und derselben Kartoffelknolle wurden für weitere Versuche die Proben immer nur aus einer Kartoffel genommen und wie folgt geschnitten:

Um n Portionen zu bekommen, wurden aus der Mitte der Kartoffel n gleichschwere Scheiben geschnitten, welche jede in n Sektoren geteilt

wurden. Für jede Portion wurde dann aus allen Scheiben je ein Sektor genommen, in solcher Weise, daß die Sektoren jeder Portion in der ursprünglichen Knolle eine Schraubenlinie bildeten.

Um den Einfluß der Oberfläche zu zeigen, wurden nun die Versuche wiederholt. Von vier in obiger Weise bereiteten Portionen wurden die Sektoren der Nr. 2 und 4 in zwei und drei Scheiben geschnitten. Die Tabelle zeigt, daß die Unterschiede verschwunden sind und daß also die Größe der verwundeten Oberfläche ohne Bedeutung für die Saccharosebildung ist.

Nr.	Gewicht der Proben g	Gewichtsverlust während der Behandlung Proz.	Dicke der Scheiben mm	Zuckergehalt		Saccharosegehalt für 15,1 Proz. Wasserverlust, errechnet aus den Daten der Nr. 1 und 3
				Reduz. Zucker Proz.	Saccharose Proz.	
1	17,27	15,4	4	0,20	1,15	1,10
2	16,28	15,6	2	0,20	1,22	1,14
3	16,52	15,1	4	0,21	1,10	1,10
4	16,11	15,1	$1^1/_3$	0,22	1,13	1,13

Grenze des Wasserverlustes, oberhalb welcher keine Saccharosebildung möglich ist.

Wir sind nun auch imstande, mittels der Bestimmung des Endwertes den schon früher genannten „toten Punkt" zu finden, wo die Saccharosebildung infolge allzu großer Austrocknung aufhört. Hierzu wurden aus einer Kartoffel sechs Scheiben geschnitten. Die erste und die sechste bildeten zusammen eine Probe zur Bestimmung der Trockensubstanz. Die anderen wurden bei $\pm$ 40° getrocknet, bis ihre Gewichtsverluste variierten zwischen $\pm$ 44 und 50 Proz. Die Gewichtsverluste der getrockneten Scheiben wurden dann bestimmt, jede Scheibe wurde in acht Sektoren geschnitten und in zwei Portionen geteilt (*a* und *b*), indem die acht Sektoren vier zu vier zusammengefügt wurden, wie es von Abb. 4 gezeigt wird. Alle Proben *a* wurden nun analysiert; die Proben *b* verblieben einige Tage in feuchten Flaschen, bevor sie zur Untersuchung gelangten. Weil es nur darauf ankam, festzustellen, ob während des Aufbewahrens der Zuckergehalt sich ändert, wurde nur der Gehalt an reduzierendem Zucker nach der Inversion bestimmt. Die folgenden Tabellen enthalten die Resultate:

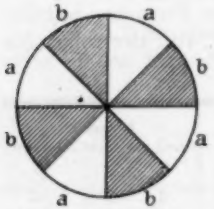


Abb. 4.

Trockensubstanz der ursprünglichen Kartoffel 26,2 Proz.

Nr.	Gewicht der Scheiben g	Gewicht der Proben nach dem Trocknen g	Gewichtsverlust während des Trocknens Proz.	Trockensubstanz der getrockneten Proben Proz	Zuckergehalt in Proz. nach der Inversion, als Saccharose berechnet
1	15,23	7,79 (a 3,77; b 4,02)	48,9	51,3	a 1,89; b 1,97
2	14,14	7,44 (a 3,51; b 3,93)	47,4	49,8	a 1,78; b 1,86
3	12,98	7,28 (a 3,36; b 3,92)	43,9	46,7	a 1,61; b 1,72
4	12,95	6,42 (a 3,52; b 2,90)	50,4	52,8	a 1,75; b 1,76

Trockensubstanz der ursprünglichen Kartoffel 24,5 Proz.

1	28,49	13,48 (a 6,35; b 7,13)	52,7	51,8	a 1,18; b 1,25
2	27,35	12,53 (a 6,07; b 6,46)	54,2	53,5	a 1,16; b 1,18
3	22,96	10,35 (a 4,64; b 5,71)	54,9	54,3	a 1,28; b 1,26

Es zeigt sich, daß Zuckerbildung nicht möglich ist in einer Kartoffel, deren Trockensubstanz über $\pm$ 53 Proz. gestiegen ist.

Saccharosebildung infolge Wasserentziehung auf anderem Wege.

Wir kamen schon zu dem Schluß, daß die große Saccharosebildung, welche sich beim Trocknen von Kartoffeln bemerkbar macht, im Wasserverlust ihre Ursache findet. Diese Auffassung würde auf festere Basis gestellt sein, wenn es gelänge, in einer Kartoffel Saccharosebildung hervorzubringen, auch wenn das Wasser nicht durch Trocknen entzogen worden ist. Dazu wurden einige Kartoffelscheiben mit 3proz. Kochsalzlösung oder mit 12proz. Glukoselösung in Berührung gelassen, bis sie 1 bis 13 Proz. ihres Gewichts verloren hatten. Während die mit Salzlösung behandelten Proben ihre saccharosebildende Kraft völlig eingebüßt hatten, zeigten die mittels Glucoselösung teilweise entwässerten Scheiben nach einigen Tagen reichliche Saccharosebildung. Die folgenden Versuche zeigen, daß der Endwert von der Weise der Wasserentziehung nicht beeinflußt wird. Zwei Portionen einer Kartoffel wurden $\pm$ 18 Proz. Wasser entzogen, das eine Mal durch Trocknung, das andere Mal mittels Glucoselösung. Die Proben wurden dann während einer Woche nebeneinander in feuchten Flaschen aufbewahrt und dann untersucht.

Nr.	Gewicht der Proben g	Gewichtsverlust Proz.	Weise der Wasserentziehung	Zuckergehalt: Reduz. Zucker Proz.	Zuckergehalt: Saccharose Proz.
1	15,05	18,5	mittels Glucose	0,43	1,22
2	14,94	18,7	durch Trocknen	0,32	1,23
	Der Versuch wurde wiederholt.				
1	18,28	18,7	mittels Glucose	0,42	0,88
2	18,17	19,0	durch Trocknen	0,40	0,87

Nachdem wir mithin bewiesen haben, daß allein die Größe der Wasserentziehung für die Größe der Saccharosebildung maßgebend ist, bleibt noch die Frage zu beantworten übrig, ob es möglich ist, den Saccharosegehalt der Kartoffel zu erniedrigen durch Erhöhung ihres Wassergehalts. Der Beweis hierfür wird von den folgenden Versuchen erbracht. Von zwei Portionen einer Kartoffel wurde die erste nicht behandelt, die zweite einige Zeit mit Wasser in Berührung gelassen. Nach 24 Stunden wurden beide analysiert.

Nr.	Gewicht der Proben g	Gewichtszunahme Proz.	Zuckergehalt: Reduz. Zucker Proz.	Zuckergehalt: Saccharose Proz.
1	11,57	0	0,23	0,32
2	11,97	5,2	0,22	0,20
	Der Versuch wurde wiederholt:			
1	12,90	−0,2	1,01	0,39
2	12,70	11,2	1,00	0,21

Zusammenfassung.

1. Wenn man Kartoffelscheiben Wasser entzieht, sei es, daß dies durch Trocknung oder auf anderem Wege geschieht, dann erhöht sich ihr Saccharosegehalt, und es ist die Größe der Zunahme innerhalb gewisser Grenzen von der Art der Wasserentziehung unabhängig. Die von *Waterman* gefundene Saccharosebildung beim Trocknen der Kartoffeln ist dann auch dem Wasserverlust, nicht dem Temperatureinfluß zuzuschreiben.

2. Die Saccharosebildung findet nicht statt in Kartoffeln mit einem Trockensubstanzgehalt über $\pm$ 53 Proz.

3. Die Geschwindigkeit der Saccharosebildung ist verhältnismäßig klein, so daß es möglich ist, die Austrocknung so schnell zu bewirken, daß obengenannter Trockengehalt erreicht ist, bevor sich die maximale

Menge Saccharose gebildet hat. Aus diesem Grunde bildet sich beim Trocknen um so mehr Saccharose, je nachdem die Temperatur niedriger ist.

4. In schnell getrockneten Kartoffeln schreitet die Saccharosebildung nach dem Einstellen der Austrocknung fort, wenn nur der Trockengehalt nicht über ± 53 Proz. gestiegen ist. Ihr Saccharosegehalt erreicht dann nach bestimmter Zeit einen Endwert.

5. Kartoffelbrei bildet beim Trocknen keine Saccharose.

6. Erhöhung des Wassergehalts der Kartoffel hat Abnahme des Saccharosegehalts zur Folge.

In einer zweiten Mitteilung werden wir den Einfluß betrachten, der von dem Wassergehalt und der Temperatur auf die Größe des Endwertes und auf die Geschwindigkeit der Saccharosebildung ausgeübt wird.

Über die Wirkung wiederholter Insulingaben.

Von

K. Waltner.

(Aus der Kinderabteilung des Johns-Hopkins-Hospital Baltimore und aus der kgl. ung. Universitäts-Kinderklinik Szeged.)

(Eingegangen am 22. Juli 1926.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

In einer vorläufigen Mitteilung (Wien. klin. Wochenschr. 1925, Nr. 41) berichteten wir über unsere Beobachtungen an Ratten nach täglich wiederholten Insulingaben. Unsere Schlußfolgerung war, daß durch wiederholte Einspritzungen die Empfindlichkeit gegen Insulin gesteigert wird. Da an den damals gebrauchten Versuchstieren systematische Blutzuckerbestimmungen nicht angestellt werden konnten, beschränkte sich unsere Beobachtung auf die Feststellung des Zeitpunktes, wann unsere Tiere Zeichen einer Insulinvergiftung zeigten (Krampf) bzw. zugrunde gingen.

In den Untersuchungen, über die in dem jetzigen Bericht gesprochen werden soll, wurden Kaninchen verwendet, die doch für Insulinexperimente im ausgebreiteten Maße benutzt werden und für die Entnahme der zur Blutzuckerbestimmung nötigen Blutmenge außerordentlich geeignet sind.

Unsere Fragestellung war in erster Reihe: Wie wirken täglich wiederholte, nicht toxische Insulingaben? Mit Rücksicht auf in unseren Rattenexperimenten gewonnene Resultate fragten wir aber auch gleichzeitig: Bedeutet die gesteigerte Empfindlichkeit nach wiederholten Einspritzungen nur eine veränderte Krampfgrenze, d. h. eine gesteigerte Krampfbereitschaft, oder aber bewirkt eine wiederholte Insulindosis ein stets tieferes Herabsinken des Blutzuckers?

Jeder, der Insulinexperimente an Kaninchen ausführt, weiß, daß ein Tier nur nach einer Ruhepause von etwa 2 Wochen wieder benutzt werden kann. Niemand aber — soweit wir die Literatur kennen — hat bisher etwas Näheres oder Bestimmteres als Begründung ausgesprochen. Es wird immer nur gesagt, daß die Tiere auf eine binnen der genannten Zeit wiederholte Insulineinspritzung verändert reagieren. *H. Langecker* und *W. Stross*[1]) beschreiben in ihrem Aufsatz, daß bei ihren Tieren etwa am fünften Tage nach der Insulineinspritzung eine

[1]) Diese Zeitschr. **161**, 295, 1925.

spontane (?) Senkung des Blutzuckers einzutreten pflegte, welche von einer Überempfindlichkeit der Tiere gegen Insulin begleitet war. Diese Reaktion soll selbst einige Tage anhalten.

Wir benutzten erwachsene Kaninchen mit einem Gewicht von etwa 2500 g. Das verwandte Insulin war — außer einer ganz kleinen Menge — Insulin *Lilly*. Die Zuckerbestimmungen wurden mit vom Ohre genommenen Blute mit der Methode *Bang II* gemacht. Die erste Blutentnahme geschah um 9 Uhr morgens. Darauf wurde sofort das Insulin subkutan injiziert. Die zweite Blutentnahme folgte 3 Stunden nach der Insulineinspritzung, nachher bekamen die Tiere sofort Futter. Das Futter wurde dann nachmittags um 6 Uhr von den Tieren wieder weggenommen, so daß die Zeitdauer des Nahrungsentzuges etwa 15 Stunden ausmachte.

Die Tabellen und Kurven benötigen keiner eingehenderen Erklärung. Die Kurven zeigen die Blutzuckersenkungen in Prozenten der Nüchternwerte ausgedrückt. *K* = Krampf. Wie aus der Tabelle ersichtlich, ging Tier 1 nach relativ kurzer Zeit im zweiten Krampfe trotz Dextrose und Adrenalineinspritzung zugrunde. Tier 2 und 3 hatten andererseits zahlreiche Krämpfe überstanden, ohne antihypoglykämisch wirkende Substanzen zu erhalten. Die Tiere wurden ihrem Schicksal überlassen, d. h. das spontane Sistieren der Krämpfe abgewartet.

Tier 3 zeigte keine besondere Gewichtsveränderung während des Experiments. Tier 2 behielt sein Gewicht (2500 g) bis zur 30. Einspritzung, verlor dann aber binnen 2 Wochen, d. h. bis zur 43. Dosis etwa 500 g.

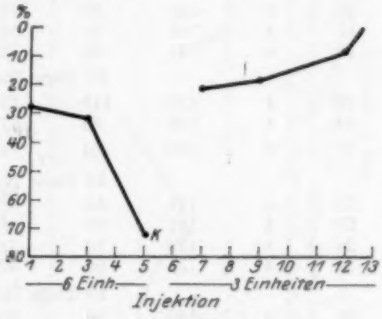


Abb. 1. (Tier 1.)

Die Folgerung, die unsere Resultate zulassen, ist: Täglich wiederholte Einspritzungen einer nicht toxischen, aber relativ hohen Einzeldosis entfalten einen stets intensiveren Effekt, welcher

Tier 1.

Einspritzung Nr.	Dosis in klinischen Einheiten	Blutzucker vor Insulin mg	Blutzucker 3 Stunden nach Insulin mg	Blutzucker gesunken Proz.	Krämpfe aufgetreten nach Injektion Stdn.	Krämpfe Zahl der Anfälle	Bemerkungen
1	6	132	96	27	—	—	Nicht gehungert
3	6	131	90	31	—	—	" "
5	6	—	36	73	$4^1/_2$	1	Adrenalin 1 ccm. Dextrose $2^1/_2$ g
7	3	134	105	21	—	—	Nicht gehungert
9	3	111	91	18	—	—	" "
12	3	204	186	9	—	—	" "
14	4	143	179	+ 25	—	—	" "
17	4	121	39	68	$2^1/_2$	6—8	Adrenalin 1 ccm. Dextrose 2 g

in einer stets ausgesprochenen blutzuckersenkenden Wirkung und schließlich in dem Auftreten von Vergiftungserscheinungen (Krämpfe) zum Ausdruck kommt. Das Verhalten des Tieres 3 in der ersten Hälfte des Experiments scheint dafür zu sprechen, daß mittlere Dosen bei Wiederholung keine Veränderung der Empfindlichkeit als Folge haben. Die am

Tier 2.

Einspritzung Nr.	Dosis in klinischen Einheiten	Blutzucker vor Insulin mg	Blutzucker 3 Stunden nach Insulin mg	Blutzucker gesunken Proz.	Krämpfe aufgetreten nach Injektion Stdn.	Krämpfe Zahl der Anfälle	Bemerkungen
1	5	121	73	40	—	—	Nicht gehungert
4	6	106	55	48	—	—	" "
6	6	129	50	61	—	—	" "
8	6	118	36	70	$4^1/_2$	1	Adrenalin 1 ccm, Dextrose 2 g
11	4	127	—	—	—	—	Nicht gehungert
13	4	166	102	39	—	—	" "
16	4	133	35	74	—	—	" "
17	4	162	72	56	$2^1/_4$	1	" "
18	4	141	68	52	$2^1/_4$	3	" "
			10 Tage Ruhepause.				
19	4	136	119	13	—	—	Nicht gehungert
20	4	129	68	47	—	—	" "
21	4	130	54	74	$2^1/_2$	6—8	Adrenalin $^1/_2$ ccm, Dextrose 2 g
			16 Tage Ruhepause.				
22	4	121	58	52	—	—	Nicht gehungert
23	4	142	88	38	—	—	
24	4	126	70	44	—	—	
25	4	135	69	49	$2^1/_2$	1	
			18 Tage Ruhepause.				
26	4	130	96	26	—	—	Nicht gehungert
27	4	143	70	51	—	—	
28	4	150	80	47	3	1	
29	4	156	34	78	$2^1/_2$	1	
30	4	154	44	71	$2^1/_2$	5	
			1 Tag Ruhepause.				
31	2	159	85	47	—	—	15 Stdn. gehungert
32	2	114	81	29	—	—	
33	2	154	89	42	—	—	
34	2	133	66	50	3	1	
35	2	125	61	51	$2^3/_4$	6	
36	1	107	51	52	$3^3/_4$	1	
37	$^1/_2$	—	—	—	—	—	
38	$^1/_2$	110	77	30	—	—	
39	$^1/_2$	—	—	—	—	—	
40	$^1/_2$	131	80	39	—	—	
41	$^1/_2$	105	64	39	—	—	
42	$^1/_2$	118	64	46	3	1	
43	$^1/_2$	104	82	21	—	—	
44	$^1/_2$	—	—	—	2	7	

Abb. 2. (Tier 2.)

Abb. 3. (Tier 3.)

Tiere 1 und 3 erhaltenen Resultate erwecken auch den Gedanken, daß das Wiederholen kleiner Dosen die Empfindlichkeit gegen Insulin vielleicht herabsetzt.

Tier 3.

Einspritzung Nr.	Dosis in klinischen Einheiten	Blutzucker vor Insulin mg	Blutzucker 3 Stunden nach Insulin mg	Blutzucker gesunken Proz.	Krämpfe aufgetreten nach Injektion Stdn.	Krämpfe Zahl der Anfälle	Bemerkungen
1	4	107	72	33	—	—	
2	4	121	63	49	—	—	
3	4	124	75	40	—	—	
4	4	125	86	31	—	—	
5	4	143	79	45	—	—	
6	4	130	88	32	—	—	15 Stdn. gehungert
7	4	132	77	42	—	—	
8	4	129	73	45	—	—	
9	4	111	66	41	—	—	
10	4	123	73	41	—	—	
11	4	118	69	42	—	—	
12	4	146	70	52	—	—	
		1 Tag Ruhepause.					
13	4	—	—	—	—	—	
14	4	158	113	29	—	—	
15	4	128	83	35	—	—	
16	4	132	73	45	—	—	
17	4	112	65	42	—	—	
18	4	114	73	36	—	—	
19	4	—	—	—	—	—	
20	4	132	105	21	—	—	
21	5	132	64	52	—	—	
22	5	134	84	37	—	—	
25	6	145	61	58	—	—	
24	6	146	58	60	—	—	
25	6	139	51	63	—	—	
26	6	139	61	56	—	—	15 Stdn. gehungert
27	6	152	42	72	—	—	
28	6	120	47	61	$21/2$	3	
29	6	171	64	63	$3^3/4$	1	
30	6	152	80	47	$2^3/4$	2	
31	6	145	77	47	$2^3/4$	2	
32	2	121	105	13	—	—	
33	2	—	—	—	—	—	
34	2	119	99	17	—	—	
35	2	—	—	—	—	—	
36	2	150	102	32	—	—	
37	2	107	107	0	—	—	
38	2	118	111	6	—	—	
39	2	123	111	10	—	—	

Seite
Erlenbach, R. und S. A. Kostytschew. Über die Einwirkung des Blutplasmas auf die Alkoholgärung. [illegible] und der Galle 79
Vahlen, E. und J. Sapožnikoff. [illegible]. V. Mitteilung: Die Einwirkungen einiger [illegible] und [illegible] Wirkungsbreite 84
Fuchs, Hans J. und Fürst, H. v. [illegible]. Über proteolytische Fermente im Serum. III. [illegible] eine chemisch nachweisbare Trypsin-Antitrypsin-Bindung? 89
Kossowicz, J. H. Der Kochsalzgehalt [illegible] Wasser und dessen genaue Bestimmung 101
Lahr, Emanuel Hedwig. [illegible] der Lymphdrüsen und Schwämme 109
Meisenheimer, Elsa. Zur Kenntnis der [illegible] der Oxamate 127
Zeller, Heinrich. Wirkung [illegible] auf die Bildgärung. V. 134
— — Steigerung der [illegible]. VI. 142
Rosenheim, Samuel. [illegible]. Zur Kenntnis der Kautschuke und ihrer Bestandteile. [illegible] Oxydationen 155
Lundin, Gotthard. Beiträge zur [illegible] Milchanalyse 167
Delbrück, G. und R. P. Hibbard. [illegible] von Invertinpräparaten in [illegible] der Bestimmung. I. Mitteilung: Über die Anwendung [illegible] Reduktionen 169
Rakow, B. Titrationsversuche [illegible] der Harnsäure 179
Rosenheim, W. und R. Rosenheim. [illegible] und Harnsäurewert 183
Calvert, R. J., G. E. Wheeler [illegible] und G. W. Oppel. Zur Frage nach dem [illegible] Reaktion und ihrer Spezifität 189
Schmidt, E. A. und E. G. [illegible] der Harnsäure 190
Schmidtchen, Th. Über die [illegible] und Alkalipalmitate. VII. Mitteilung: [illegible] Schmelzpunkte und Löslichkeit [illegible] Alkalipalmitate und ihre Gemische mit Alkalioleaten 210
Wolff, G. J. de. Die [illegible] während der Verdauung. I. 225
Wohlgemuth, J. Über die [illegible] 240

Verlag von Julius [illegible] in Wien I

Vor kurzem erschien:

Eiweißkörper und Kolloide

Zwei Vorträge für Biologen und Chemiker

Von Professor [illegible]

Vorstand des [illegible] der Universität Wien

36 Seiten [illegible] RM. 2.40

1. Vortrag: Die Eiweißkörper als Kolloide

2. Vortrag: Über den [illegible] der organischen Kolloide

Biochemische Zeitschrift

[illegible] Hefte, die in loser Folge zur Ausgabe gelangen; 24 solche Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt M [illegible].—

[illegible]

[illegible]

[illegible]

Über Manoiloffs Reaktionen und die Möglichkeit, mit Hilfe dieser das Geschlecht zu bestimmen.

Von

Gustaf Alsterberg und **Artur Håkansson.**

(Aus den zoologischen und botanischen Instituten der Universität Lund.)

(Eingegangen am 19. Juni 1926.)

Es ist eine bekannte Tatsache, daß man mit Hilfe chemischer Reaktionen sehr sicher das Blut einer Tierart bestimmen kann, und gleichfalls hat man dadurch interessante Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den verschiedenen Tierarten zu ermitteln vermocht. In letzter Zeit wurden mittels dieser Reaktionen auch pflanzensystematische Fragen nach denselben Gesichtspunkten bearbeitet. Vor kurzem ist es sogar gelungen — besonders im Hinblick auf den Menschen —, Verschiedenheiten auch im Blute der einzelnen Individuen festzustellen.

Es nimmt daher natürlich wunder, daß die Auffindung bestimmter chemischer Differenzen in den Gewebselementen der verschiedenen Geschlechter bisher nicht geglückt ist, obwohl die rein äußeren Verschiedenheiten nicht so ausgeprägt sein können. Besonders mit Rücksicht auf den Menschen ist es verständlich, welche außerordentlich wertvolle Bereicherung eine derartige differenzierende Reaktion für die forensische Medizin bedeuten würde, und gerade im Hinblick darauf hat *Manoiloff* (1924) diese Frage einem eingehenden Studium unterzogen. Er glaubte bestimmte Verfahren, die sich auf chemische Reaktionen gründeten, ausgearbeitet zu haben, mit Hilfe deren man in Beziehung auf das Geschlecht den Ursprung des Blutes oder anderer Gewebselemente ermitteln könnte, wenn eine Entscheidung auf Grund der anatomischen oder histologischen Struktur nicht getroffen werden könnte.

Diese von *Manoiloff* ausgearbeiteten Reaktionen begegneten einem großen Interesse, zumal man der Ansicht war, man könnte diese Reaktionen als allgemeine diagnostische Methodik für die gesamte Organismenwelt, sowohl für die vegetabilische als auch für die animalische in Anspruch nehmen. *Manoiloff* selbst vertrat die Auffassung, diese universelle Gültigkeit beruhe auf der früher allgemein angenommenen Verwandtschaft zwischen Hämoglobin und Chlorophyll, während nach *Grünbergs* Anschauung (1924 ref. *Manoiloff*) das Geschlechtshormon, das Substrat der Reaktion, auf sämtliche Pflanzenzellen verteilt sein soll; im übrigen vertritt *Grünberg* bezüglich der Gültigkeit der Reaktion denselben Standpunkt wie *Manoiloff*.

Des weiteren haben *Manoiloffs* Reaktionen als Ausgangspunkt für eine Reihe vom Carnegieinstitut unterstützter Untersuchungen gedient (*Satina* und *Banta* 1925, *Satina* und *Demerec* 1925, *Satina* und *Blakeslee* 1926). Als Untersuchungsmaterial wurden Tiere und Pflanzen der verschiedensten Klassen verwandt. Im allgemeinen sind befriedigende Resultate erzielt worden, und die Autoren sehen die nicht nach der Regel ausgefallenen Reaktionsergebnisse als auf rein technischen Fehlern beruhend an.

Indessen erwies es sich aus verschiedenen Gründen als unbedingt erforderlich, die *Manoiloff*schen Resultate einer eingehenden kontrollanalytischen Untersuchung zu unterwerfen. Zunächst scheint die Methode nach rein empirischen Grundlagen und ohne irgend ein klar gefaßtes chemisches Prinzip ausgearbeitet worden zu sein. Wenigstens gelangt der Leser zu dieser Auffassung durch *Manoiloffs* eigene Arbeiten. Der Autor betont darin nämlich, daß diese Seite des Problems noch immer hypothetischer Natur ist, er ist aber geneigt anzunehmen, „daß im weiblichen Blute etwas existiert, was die Bildung der Leukobase verhindert, infolgedessen unterscheidet sich die weibliche Emulsion von der männlichen". Ferner hat *Manoiloff* diese Methode in der gerichtlich-medizinischen Praxis anwenden wollen, ein Unterfangen, das natürlich erst nach einer sehr eingehenden Prüfung in Frage kommen kann. Und schließlich ist das Problem besonders deswegen in hohem Grade aktuell, weil man, wie eben erwähnt wurde, der Reaktion eine allgemeine biologische Tragweite hat zuschreiben wollen.

I. Manoiloffs Methodik.

Manoiloff (l. c.) hat insgesamt nicht weniger als 36 verschiedene Reaktionen ausgearbeitet, die alle dazu geeignet sein sollen, den chemischen Unterschied zwischen dem männlichen und weiblichen Geschlecht aufzudecken. Von diesen Reaktionen wählt er indessen zur Demonstration nur drei Typen aus, die nach seiner Ansicht die besten Resultate gegeben haben. Unter diesen befindet sich besonders eine Reaktion — in seiner hier immer wieder erwähnten Arbeit als „die III. Modifikation" bezeichnet —, der er ein ganz besonderes Interesse zuwendet und die er vor allen anderen bevorzugt. Diese Reaktion liegt auch den Abhandlungen von *Satina* und Mitarbeitern zugrunde und ist in unserer folgenden Untersuchung besonders kontrolliert worden. Wir referieren im folgenden diejenigen Teile, die aus *Manoiloffs* (l. c.) Abhandlung für unsere Untersuchungen von besonderer Bedeutung gewesen sind.

Nach *Manoiloff* (l. c.) sind zur Ausführung dieser Reaktion folgende Reagenzien erforderlich:

„1. Reagens: 1proz. wässerige Lösung von Papayotinum (*Merck*) (muß filtriert werden).

2. Reagens: 1proz. alkoholische Lösung von Dahliafarbe (*Grübler*) oder Methylviolett 1912 (muß filtriert werden).

3. Reagens: 1proz. wässerige Lösung von Kaliumpermanganat.

4. Reagens: 40proz. HCl (40 ccm konzentrierter HCl + 60 ccm H_2O).

5. Reagens: 2proz. Thiosinaminlösung (in kaltem Wasser schwer löslich; muß erwärmt und filtriert werden)."

Bei Anwendung der Methodik verläuft der Analysengang folgendermaßen: „Zu 3 ccm nicht erwärmter Erythrocytenemulsion gibt man 10 Tropfen vom 1. Reagens (1 Minute umrühren, aber nicht umschütteln!), darauf setzt man 3 Tropfen vom 2. Reagens (je nach Standardisierung) zu (umrühren, aber nicht umschütteln!) und fügt alsdann 10 Tropfen vom 3. Reagens hinzu (gut umrühren!). Man versetzt nunmehr mit 3 Tropfen vom 4. Reagens (gut umschütteln!) und fügt zum Schluß 5 Tropfen vom 5. Reagens hinzu (gut umschütteln!). Die männliche Emulsion wird entfärbt, die weibliche nicht."

Als Untersuchungssubstrat verwandte *Manoiloff* bei seinen eigenen Untersuchungen zumeist Blut. Zu dem von der Wassermannreaktion übriggebliebenen Material setzte er Blutkoagulat, physiologische Kochsalzlösung und rührte mit einem Glasstabe um, bis er eine halbdurchsichtige Erythrocytenemulsion erhielt. Zu jeder Probe wurden 3 ccm entnommen. Lag neues Blut zur Untersuchung vor, so bereitete er sich durch Verdünnung dieser Lösungen geeignete Konzentrationen.

Manoiloff benutzte auch Fleisch verschiedener Tiere und hat dabei genau dasselbe Resultat erhalten wie mit Blut. Als Extraktionsflüssigkeit diente ihm eine Lösung, die aus einer Mischung von 50 ccm 1proz. Natriumcitratlösung, 75 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 10 Tropfen einer 10proz. Ätzkalilösung bestand. Diese Lösung wurde dem fein zerkleinerten Fleischmaterial zugesetzt und letzteres während etwa 2 Stunden extrahiert. Der Extrakt wurde alsdann nach der „III. Modifikation" untersucht.

Bei der Untersuchung von Pflanzenmaterial (Blätter) wurde dieses während 1 bis 2 Stunden oder noch länger bei Zimmertemperatur mit 60proz. Alkohol extrahiert, worauf der Extrakt nach der III. Modifikation geprüft wurde: „Die Resultate sind genau die gleichen; das Chlorophyll des männlichen Exemplars wird entfärbt, das des weiblichen dagegen bleibt gefärbt oder wird höchstens teilweise entfärbt."

Bei unseren kontrollanalytischen Untersuchungen haben wir tunlichst die oben angegebenen Verhaltungsmaßregeln befolgt, sofern sich nicht beim Studium des Reaktionsmechanismus Abweichungen als notwendig erwiesen. Als Farbstoff wählten wir stets Dahlia (*Grübler*); das Papayotin und die Permanganatlösung wurden mit einer graduierten Pipette abgemessen und zu jeder Probe 0,35 ccm zugesetzt, eine Quantität, die 10 Tropfen entspricht. Dieses Meßverfahren ist sowohl bequemer als auch mit einem regelmäßigeren Resultat verbunden.

II. Der Reaktionsmechanismus.

1. Die Art und Menge des organischen Extraktes. Wie schon erwähnt, war der Mechanismus der *Manoiloff*schen Reaktion dem Entdecker selbst zum großen Teil unbekannt; er war ohne weiteres geneigt anzunehmen, die wirksame Substanz gehöre unter die Gruppe der Enzyme oder sogar der Geschlechtshormone. Er wollte offensichtlich die qualitative Natur der Reaktion betonen, da nach seiner Feststellung dasselbe Blut unabhängig von der Quantität die gleiche Reaktion gibt, deren Auftreten einzig und allein mit dem Geschlecht in Beziehung steht. Es läßt sich wohl auch kaum ein Blutkoagulum quantitativ genau

abmessen. Offenbar liegt die Frage so — wenigstens im Hinblick auf die mögliche Bedeutung des Verfahrens für die gerichtlich-medizinische Praxis —, daß die Reaktion, um hier von Nutzen zu sein, qualitativ sein muß, da ja unter den vorhandenen Bedingungen von einer quantitativen Messung des Untersuchungsmaterials nicht die Rede sein kann.

Infolgedessen begannen wir mit der Prüfung zunächst dieses Punktes. *Manoiloff* selbst hat sich, ohne über diesen Gegenstand völlig im klaren zu sein, mit dieser Frage beschäftigt. Es ergaben sich verschiedene Korrektionsvorschläge in solchen Fällen, in denen die Reaktion in fehlerhafter Weise verläuft; über diese Verbesserungen wird weiter unten noch zu sprechen sein. Auch *Satina* und Mitarbeiter haben das gleiche Problem in den Kreis ihrer Betrachtungen gezogen, ohne ihm ein eingehenderes Studium zu widmen; so konstatierten *Satina* und *Blakeslee* (1926, S. 200), daß verschiedene Teile derselben Pflanze verschiedenartige Reaktionen gaben, und haben bei dieser Gelegenheit ausgesprochen, daß „it is possible, that the reaction obtained were due primarily to quantitative differences in the extracts tested".

Wir haben alle möglichen Arten von Extrakten geprüft, sowohl vegetabilischen als auch animalischen Ursprungs, gerade hinsichtlich der Konzentration, und haben gefunden, daß jeder Extrakt im allgemeinen bei zunehmender Verdünnung bei Beendigung der *Manoiloff*schen Reaktion einen immer schwächer werdenden Farbton aufweist. Wir führen hier einige Resultate an.

Tabelle I.

Salix purpurea. ♂, Blätter. 2 g Substanz in 10 ccm 60proz. Alkohol. Vierstündige Extraktionsdauer. Von dem stark grün gefärbten Extrakt wurden zu jeder Probe verschiedene unten angegebene Mengen entnommen, worauf zu der Probe 60proz. Alkohol gegeben wurde, bis das Volumen 3 ccm betrug. Im übrigen wurden die Vorschriften von *Manoiloff* befolgt.

Extraktmenge ccm	Farbe der Probe	Extraktmenge ccm	Farbe der Probe
3	blauschwarz	0,25	hellrotviolett
1	blauviolett	0,15	rosa
0,5	rotviolett		

Tabelle II.

Kaninchen, ♀, Blut. Das Blut wurde zu den in der Tabelle angegebenen Konzentrationen mittels physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Blut Proz.	Farbe der Probe	Blut Proz.	Farbe der Probe
30	braunschwarz	5	rotviolett
10	rotbraun	2,5	rotgelb

Aus zahlreichen, in derselben Weise angestellten Versuchen, die das gleiche Resultat zeitigten, ging hervor, daß die Wirkung der Stoffe im wesentlichen davon abhing, ob eine größere oder kleinere Menge derselben in der Probe vorhanden war. Über die Art dieser Substanzen ließen sich aus verschiedenen Gründen bereits einige Vermutungen aussprechen. Da das Wesen der Reaktion in einem Oxydations- oder Reduktionsprozeß bestehen muß, könnte man hier vor allem an die Anwesenheit größerer oder kleinerer Mengen reduzierender Substanzen denken. Es kommt dann hauptsächlich darauf an, ob das Reduktions- oder Oxydationsmittel im Überschuß zugegen ist, da die Art des Überschusses bestimmt, in welcher Richtung das Resultat ausfallen wird.

Um mit aller Sicherheit zu zeigen, daß wir es gerade im vorliegenden Falle mit einer Wirkung reduzierender Stoffe zu tun haben, haben wir mit einer Anzahl reduzierender Stoffe sehr verschiedener Typen Versuche angestellt.

Tabelle III.

Natriumbisulfit, 2proz. wässerige Lösung; zur Probe wurde (nebst 3 ccm Aqua dest.) die unten angegebene Anzahl Tropfen hinzugesetzt. Im übrigen erfolgte die Ausführung der Probe nach *Manoiloffs* Vorschrift.

Bisulfit Anzahl Tropfen	Farbe der Probe	Bisulfit Anzahl Tropfen	Farbe der Probe
1	farblos	5	ziemlich stark violett
2	„	6	sehr stark violett
3	„	7	noch stärker violett
4	rosa		

Wie wir sehen, erhalten wir hier genau die gleiche Skala wie die bei der Probe des Extraktes aus *Salix purpurea*. Ähnliche Resultate erhielten wir bei Versuchen mit Natriumnitrit, Rhodankalium, Natriumarsenit, Oxalsäure, Milch usw. Es ist also ohne weiteres anzunehmen, daß wir es bei der *Manoiloff*schen Reaktion nicht mit der Wirkung irgend eines spezifischen Stoffes — am allerwenigsten mit Geschlechtshormonen — zu tun haben, sondern daß *die Reaktionsergebnisse ausschließlich auf der Gegenwart einer größeren oder kleineren Menge organischer Substanz in der Probe beruhen.*

2. *Die Bedeutung des Papayotins.* Auf Grund der eben erwähnten Resultate ist es nicht besonders schwer, sich über die Bedeutung des Papayotins klar zu werden. *Manoiloff* hat anscheinend, ohne sich jedoch darüber klar zu äußern, angenommen, daß durch dieses Enzym gerade die wirksamen, für die weibliche Reaktion notwendigen Hormone aus dem Eiweißmolekülkomplex abgespalten werden, und daß es deshalb von ganz besonderer Bedeutung für die Reaktion ist. In dieser Ansicht wird er noch dadurch bestärkt, daß, wie er hat feststellen können, bei Abwesenheit von Papayotin keine Reaktion eintrat. Die wahre Be-

deutung ist indessen eine ganz andere und die Erklärung viel einfacher: *das Enzym spielt nur die Rolle einer reduzierenden Substanz.* In dem in Tabelle III angeführten Versuch mit Natriumbisulfit konnten ja keine Geschlechtshormone als verantwortlich für das Resultat in Frage kommen. Daß *Manoiloff* ohne Papayotin farblose Proben erhielt (d. h. männliche Reaktion), erklärt sich ganz einfach dadurch, daß das Papayotin als eine ergänzende Quantität zu der vorher in der Probe anwesenden Substanz notwendig war. Der unten wiedergegebene Versuch illustriert ein derartiges Verhalten.

Tabelle IV.

In dieser Tabelle werden die Ergebnisse von Versuchen mit Milch mit oder ohne gleichzeitigen Zusatz von Papayotin angeführt. Die fehlende Menge am Volumen der Probe (= 3 ccm) wurde durch physiologische Kochsalzlösung ergänzt.

Milch ccm	Papayotin	Farbe der Probe
2	kein	stark blau
1	„	schwächer blau
0,5	„	milchweiß
0,25	„	„
0,5	gewöhnlicher Satz	blau
0,25	„ „	milchweiß

Genau die gleiche Reihe haben wir auch mit rein anorganischen Reduktionsmitteln, z. B. Natriumbisulfit, erhalten. Bei Zugabe einer großen Menge Reduktionsmittel erhält man eine gefärbte Probe (d. h. weibliche Reaktion) auch ohne Papayotin, während letzteres bei Zufügung eines geringeren Quantums Reduktionsmittel eine weibliche Reaktion hervorrufen kann, wozu das sonst zugesetzte Reduktionsmittel allein nicht imstande ist. Im übrigen läßt sich das Papayotin durch allerlei reduzierende Mittel als Zusatz zu Blut, Pflanzenextrakten usw. ersetzen, wenn man das Auftreten einer weiblichen Reaktion erzwingen will. Es war fernerhin möglich, die ganze Reaktionsserie von der typischen männlichen Reaktion bis zur typischen weiblichen Reaktion hervorzurufen, dadurch, daß man in den verschiedenen Proben von Aqua dest. ausging und mit einer immer steigenden Menge Papayotin als einziger reduzierender Substanz versetzte, abgesehen von den anderen Reagenzien, die für die *Manoiloff*sche Reaktion erforderlich sind. Schließlich ergibt sich die Frage, wie in den recht stark alkoholischen Pflanzenextrakten eine bedeutende Enzymwirkung zustande kommen kann. In der Regel wurden hier die Proben bei Papayotinzusatz sehr trübe; *Wurtz* und *Bouchut* (1879) haben in etwa 90proz. Alkohollösungen eine vollständige Fällung des fraglichen Enzyms konstatieren können.

3. Die Bedeutung des Farbstoffs. Auch in betreff des zugesetzten Farbstoffs läßt sich ziemlich genau die Rolle, die er spielt, ermitteln: Er fungiert teils als organische Substanz, teils als ein Indikator, der angibt, ob die reduzierenden oder oxydierenden Bestandteile im *Manoiloff*schen Reaktionskomplex im Überschuß vorhanden sind. *Sind mehr reduzierende Stoffe zugegen, so wird der zugesetzte Farbstoff von diesen vor einer Einwirkung des zugefügten Permanganats geschützt, und als Resultat ergibt sich eine gefärbte Probe (d. h. weibliche Reaktion). Bei Überschuß von Oxydationsmitteln wird auch der Farbstoff angegriffen und zu farblosen Verbindungen oxydiert, daher wird die Probe farblos (d. h. männliche Reaktion). Wir können uns auch Intermediärfälle denken, wo die zugesetzte Farbstoffquantität nur partiell als Reaktionsresultat bestehen bleibt.* Die Richtigkeit dieser Antizipierungen geht aus folgendem Versuch hervor.

Tabelle V.

Als Reduktionsmittel wurden jeder Probe 5 Tropfen 2proz. Natriumbisulfit (zu 3 ccm Aqua dest.) zugesetzt. Im übrigen wurden die gewöhnlichen *Manoiloff*schen Reagenzien angewandt, es wurde jedoch eine wechselnde Tropfenanzahl Dahlia zugesetzt.

Tropfen Dahlia	Farbe der Probe
3	farblos
4	violett
5	noch stärker violett

Eigentümlich und völlig unerklärlich ist sowohl *Manoiloff* selbst als auch den Verfassern der vorliegenden Abhandlung der Umstand, daß *Manoiloff* bei den verschiedenen Jahrgängen von *Grüblers* Farbstoffen bedeutende Unterschiede hat konstatieren können.

4. Die Bedeutung des Permanganats und der Salzsäure. Die Bedeutung des Permanganats liegt ausschließlich in seiner Eigenschaft eines starken Oxydationsmittels. *Durch seine Einwirkung in Verbindung mit dem zugesetzten Farbstoff als Indikator können wir von der Menge der in der Probe vorhandenen reduzierenden Substanz ein Bild bekommen.* Nun verläuft diese oxydierende Wirkung in verschiedenen Fällen höchst verschieden; denn wir müssen uns genau daran erinnern, daß die Wirkung des Permanganats zu einem nicht geringen Teil auf der Reaktion der Probe beruht; in manchen Fällen geht der Oxydationsverlauf vollständiger in alkalischer als in saurer Lösung vonstatten, in anderen Fällen ist das Verhältnis umgekehrt. Deshalb können wir den Reaktionsmechanismus in seinen Einzelheiten schwer überblicken; aber in der Hauptsache ist die Bedeutung des Permanganats die oben angedeutete. Durch Zusatz verschiedener Mengen Permanganatlösung zu den Proben können wir also einen Schlußeffekt hervorrufen, der

das Vorhandensein eines männlichen oder weiblichen Substrats nach *Manoiloff* illustriert. Dieses ist tatsächlich der Fall.

Tabelle VI.

Als Reduktionsmittel wurden jeder Probe 5 Tropfen 2proz. Natriumbisulfitlösung zu 3 ccm Aqua dest. zugesetzt. Im übrigen wurden die gewöhnlichen *Manoiloff*schen Reagenzien angewandt, aber verschiedene Mengen Permanganat.

Permanganat ccm	Farbe der Probe
0,35	farblos
0,30	rosa
0,25	ziemlich stark violett

Tabelle VII.

Zu 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurde 1 ccm 30proz. Serum (30 ccm Blut, 70 ccm physiologischer Kochsalzlösung) aus Kaninchenblut, ♂, zugesetzt. Im übrigen wurden die gewöhnlichen Reagenzien hinzugefügt; nur der Permanganatzusatz wechselte.

Permanganat ccm	Farbe der Probe
0,40	farblos
0,35	"
0,30	rosa
0,25	violett

5. Die Bedeutung des Thiosinamins. Zu den früheren, bei der *Manoiloff*schen Reaktion wirksamen Reduktionsmitteln kommt nachträglich das Thiosinamin. Wegen der Menge und der komplizierten Beschaffenheit der schon vorher an der Reaktion teilnehmenden Stoffe ist es indessen keineswegs leicht, sich im einzelnen die Wirkung des Thiosinamins klarzumachen. *Seine Bedeutung liegt ohne Zweifel darin, daß es als Reduktionsmittel fungiert.* Durch diese Substanz wird der Überschuß an Permanganat und entstandenen Mangansuperoxyden reduziert; ferner ist es möglich, daß zu farblosen Verbindungen oxydierte Dahlia durch das Thiosinamin wieder zum gefärbten Stoff reduziert wird. So haben wir mit Hilfe von Thiosinamin als Reduktionsmittel die ganze Serie von der männlichen bis zur weiblichen Reaktion konstruieren können, sowohl in Verbindung mit Papayotin als auch ohne diese Substanz. Eine besondere Bedeutung kann also diesem Stoff im Reaktionsmechanismus nicht beigelegt werden, wie es *Manoiloff* angenommen hat.

6. Andere Faktoren von Bedeutung. Auch andere Faktoren können hinsichtlich des Resultats eine Rolle spielen; so erwies sich die längere oder kürzere Einwirkungszeit besonders von Permanganat in neutraler und saurer Lösung von Bedeutung, indem eine längere Einwirkungszeit

des Oxydationsmittels oft dazu beitrug, die Farbe der Probe zu verwischen. In vielen Fällen schien indessen die Einwirkungszeit keine entscheidende Bedeutung zu besitzen. Bei den Extrakten aus Sperlingsmuskeln schien dagegen die Empfindlichkeit viel größer zu sein, es war daher recht schwer, aus demselben Extrakt gleiche, mit genau demselben Farbresultat verlaufende Reaktionen zu erhalten. Sicher dürften nicht zum mindesten aus diesem Grunde die Unterschiede in den Farbnuancen, auf die *Satina* und ihre Mitarbeiter großen Wert gelegt haben, recht zweifelhaft sein, außer daß wenigstens bei Extraktionen nichts dafür bürgt, daß nicht entscheidende Mengen der reduzierenden Substanzen im extrahierten Präparat zurückbleiben.

III. Manoiloffs Standardisierungen und Korrektionsmethoden.

Wie wir schon zuvor zur Genüge dargetan haben, ist es offenbar, daß sowohl die Quantität der Substanz, die zur Untersuchung vorliegt, als auch die Menge der Reagenzien Faktoren von größter Bedeutung sind hinsichtlich des Reaktionsergebnisses. Es ist demnach nicht verwunderlich, daß *Manoiloff* selbst die gleiche Tatsache festgestellt hat. „Sollte die Emulsion (von Erythrocyten) zu dicht oder zu dünn erscheinen, so wird sie weiter verdünnt, eventuell verstärkt (durch Zusatz von mehr Koagulat), bis sich gerade eine halbdurchsichtige Emulsion gebildet hat." Eigentümlich ist indessen, daß *Manoiloff* diese Vorschrift angegeben hat und dennoch an seiner vorher erwähnten Behauptung festhalten will, daß die Reaktion qualitativer Art sein soll.

Insbesondere legen die Korrektionen, die *Manoiloff* in denjenigen Fällen anwenden wollte, in denen das Reaktionsresultat nicht befriedigend ausgefallen war (d. h. wenn das männliche Präparat mit der weiblichen Reaktion reagiert hat und vice versa), von einer Methodik Zeugnis ab, die mit analytischem Denken und Arbeiten nicht in Einklang zu bringen ist, zumal wenn es sich um die Anwendung in der gerichtlich-medizinischen Praxis handelt. Vor allem dürfte einleuchtend sein, daß es mit einer diagnostischen Methode schlecht bestellt ist, bei der *das Resultat zu antizipieren ist, um die richtige Korrektion anbringen zu können*. Jedenfalls würde ihre Anwendung in der forensischen Medizin vorgefaßte Ansichten voraussetzen.

IV. Die analytische Sicherheit bei der von Manoiloff ausgearbeiteten Methode.

Wir haben bisher in hohem Grade die von uns geäußerte Ansicht beweisen können, daß die von *Manoiloff* ausgearbeitete Reaktion auf keiner qualitativen chemischen Differenz zwischen männlichen und weiblichen Präparaten beruht, sondern daß dieser Unterschied mehr quantitativer Art ist. Ferner erhellt ziemlich deutlich, daß diese in verschiedenen Mengen vorkommenden Stoffe reduzierender Natur

und gerade deshalb für den Verlauf der Reaktion von Bedeutung sind. Dagegen spricht nichts dafür, daß diese Stoffe Geschlechtshormone sind. Man könnte indessen vielleicht daran denken, daß die Menge derartiger reduzierender Substanz ein Spezifikum für die Geschlechter sein sollte; tatsächlich ist ja auch in dieser Hinsicht ein Unterschied im Stoffwechsel nicht nur zu erwarten gewesen, sondern bereits mit Sicherheit konstatiert worden. Es entsteht also die Frage, in welchem Maße die von *Manoiloff* ausgearbeitete Reaktion ausreicht, um eine solche in der ganzen Organismenwelt generell geltende Regel festzustellen, daß bei Weibchen Reduktionsprozesse, bei Männchen Oxydationsprozesse vorherrschen. Wir haben unter Berücksichtigung der oben erläuterten Gesichtspunkte eine ganze Reihe von Versuchen mit den verschiedensten Organismentypen und Organteilen ausgeführt. In den nachfolgenden Tabellen geben wir die Ergebnisse wieder.

Tabelle VIII. Kaninchen, 30 Proz. Blut oder Serum mit Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung; die Proben wurden mit physiologischer Kochsalzlösung zu 3 ccm ergänzt.

Individuenpaar	Präparat	Farbe der Probe	Resultat
I	0,25 ccm Blut	♂ lila, ♀ unentfärbt	entgegenges. *Manoiloff*
	1 ccm Serum	♂ schw. lila, ♀ unentfärbt	„ „
II	0,25 ccm Blut	♂ lila, ♀ unentfärbt	„ „
	1 ccm Serum	beide Proben schwach lila und gleich	„ „
III	0,25 ccm Blut	♂ deutlich lila, ♀ gelblich	„ „
	1 ccm Serum	♂ farblos, ♀ rosa	übereinst. m. *Manoiloff*

Wie wir ohne weiteres ersehen können, sind die angeführten Ergebnisse in jeder Beziehung sehr unsicher und können auf keine Weise als Stütze für die *Manoiloff*sche Methodik dienen.

Tabelle IX.

Haussperling, Pektoralmuskulatur in Citratlösung, für jedes Gramm Muskulatur 3 ccm Lösung. Extraktionsdauer 1 bis 2 Stunden. In der Tabelle ist das Resultat verschiedener Zusatzordnungen angegeben worden, da es sich gerade in betreff dieses Materials zeigte, daß den minimalen Zeitunterschieden eine gewisse Bedeutung beigemessen werden muß, die bei der Einwirkungdauer für die verschiedenen Reagenzien desselben *Probepaares* entstehen müssen, wenn ♂ oder ♀ zuerst in dieses kommen. Von dem Extrakt wurden zu jeder Probe 0,5 ccm entnommen, worauf Citratlösung bis zu 3 ccm Volumen zugesetzt wurde.

Individuenpaar	Zusatzordnung	Farbe der Probe	Resultat
I	♂ erst, dann ♀	♀ etwas mehr gefärbt	übereinst. m. *Manoiloff*
	♀ erst, dann ♂	dasselbe, Unterschied stärker ausgeprägt	dasselbe
II	♂ erst, dann ♀	♂ deutlicher lila als ♀	entgegenges. *Manoiloff*
	♀ erst, dann ♂	♀ „ „ „ ♂	übereinst. m. *Manoiloff*

Noch zwei Paare sind nach denselben Prinzipien geprüft worden und haben, wie Paar Nr. II, zweifelhafte Resultate ergeben.

Tabelle X.

Makrele, Hoden und Ovarien in Citratlösung, für jedes Gramm Substanz 3 ccm Citratlösung. Extraktionsdauer 3 Stunden. Aus dem Extrakt wurde 1 ccm genommen und die Probe mit Citratlösung zu 3 ccm ergänzt.

Individuenpaar	Farbe der Probe	Resultat
I	♂ farblos, ♀ stark gefärbt	übereinstimmend mit *Manoiloff*
II	♂ „ ♀ „ „	dasselbe

Dies ist überhaupt das einzige animalische Material, das ohne weiteres in Übereinstimmung mit den *Manoiloff*schen Prinzipien reagierte.

Tabelle XI.

Hermaphroditische Pflanzen. Staubgefäße und Karpiden extrahiert mit 60 proz. Alkohol. Von *Magnolia* wurde 1 g Substanz zu 10 ccm Alkohol genommen, während sonst 1 g zu 5 ccm verwandt wurde. Außer den bestimmten Mengen des Extraktes wurde zur Probe 60 proz. Alkohol zu insgesamt 3 ccm Volumen zugesetzt. Extraktionsdauer zwischen 3 bis 4 Stunden.

Art	Extrakt ccm	Farbe der Probe	Resultat
Magnolia, gut entw. Blütenkn.	1	♂ helle Farbe, ♀ dunkle Farbe	übereinstimmend mit *Manoiloff*
Tulipa silvestris, in voller Blüte	2	♂ dunkelviolett, ♀ rosa	entgegengesetzt *Manoiloff*
Paeonia peregrina, in voller Blüte	1	beide gefärbt, ♂ eine Nuance stärker	dasselbe
Paeonia rugosa, ziemlich verblüht	1	beide stark gefärbt, ♂ viel dunkler	„

Wie wir sehen, stimmen die angeführten Resultate keineswegs mit den nach *Manoiloff* zu erwartenden Ergebnissen überein.

Tabelle XII.

Einhäusige Pflanzen. ♂- und ♀-Infloreszenzen mit 60 proz. Alkohol extrahiert, 1 g Substanz pro 5 ccm Alkohol. Extraktionsdauer zwischen 2 bis 4 Stunden. Als Paar fungierten ♂- und ♀-Extrakte desselben Individuums.

Art	Anzahl Individuen	Extraktmenge ccm	Farbe der Probe
Carpinus betulus .	7	1	in 3 Fällen ♂ heller gefärbt als ♀, in 1 Fall gleich und in 3 Fällen bedeutend dunkler als ♀
Fagus silvatica . .	5	1—3	in 3 Fällen ♂ entfärbt, ♀ gefärbt, in 2 Fällen umgekehrt
Alnus alnobetula .	3	0,5—1	in 2 Fällen ♀ dunkler gefärbt, in 1 Fall vice versa

Auch in diesem Falle sind die Reaktionen im Hinblick auf die von *Manoiloff* und anderen ausgearbeitete Reaktion in hohem Grade zweifelhaft. Indessen lassen sich betreffs *Carpinus* bestimmte Ansichten über die bei der Entstehung von *Manoiloffs* Reaktion hauptsächlichen Faktoren äußern, die sich hier interessant genug haben analysieren lassen. Je jünger und vitaler die Infloreszenz ist, eine desto geringere Menge extrahierbarer reduzierender Substanz enthält sie, dagegen nimmt bei älteren Infloreszenzen, besonders bei männlichen, die Menge der extrahierbaren reduzierenden Substanz immer mehr zu, um nach vollendeter Blütezeit ein Maximum zu erreichen. Dasselbe ist der Fall bei *Fagus*; bei *Alnus* konnte diese Erscheinung wegen der unzureichenden Menge an Material nicht studiert werden. Der gleiche Vorgang zeigte sich bereits beim *Paeonia*-Material, dessen Reaktionen eben behandelt worden sind. Es ist demnach offensichtlich, daß in derartigen Fällen die *Manoiloff*sche Reaktion allein wegen dieser Veränderlichkeit des Materials nicht als analytische Methode zur Bestimmung des Geschlechtes eines vorliegenden Materials dienen kann.

Auch in diesem Versuch spricht das Resultat nicht mehr zugunsten *Manoiloffs*, als es sonst der Fall gewesen ist. Besonders kann darauf hingewiesen werden, daß verschiedene Pflanzenteile ganz andersartig reagieren können, was z. B. aus Materialtypen, wie *Salix alba* und *Rhodiola rosea*, hervorgeht: Während die Blätterextrakte aus *Salix alba* nach *Manoiloffs* Prinzipien reagierten, verhielten sich die Kätzchen in entgegengesetzter Richtung; bei *Rhodiola* sind es die weiblichen Blumenextrakte, die nach *Manoiloff* reagieren, die Blätterextrakte zeigen ein anderes Verhalten.

Es liegt auf der Hand, daß im Stoffwechsel kein spezifischer Unterschied betreffs der Geschlechtshormone oder des Reduktionsvermögens vorliegt, der als Basis für die Existenz einer sicheren diagnostischen Methode nach *Manoiloff* dienen kann, wenn wir auch nicht das Vorhandensein eines Unterschiedes in dem Reduktionsvermögen zwischen den Geschlechtern verneinen wollen. Daß die Reaktion von *Manoiloff* jedoch diesen Unterschied nicht genügend demonstriert, das geht vollständig aus unseren angeführten kontrollanalytischen Proben hervor.

Daß die Methode in der gerichtlichen Medizin Verwendung finden könnte, müssen wir als völlig ausgeschlossen ansehen, obwohl wir nicht untersucht haben, in welcher Art und Weise das Blut des Menschen in diesem Falle reagiert.

Als positives Resultat unserer Untersuchung können wir anführen, daß die Menge reduzierender Substanz in demselben Organ auch während ziemlich kurzer Zeitabschnitte wechseln kann. So haben wir unzweideutig solche recht schnell verlaufende Veränderungen im

Tabelle XIII.

Zweihäusige Pflanzen. Das Material mit 60proz. Alkohol extrahiert, 1 g Substanz pro 5 ccm Alkohol. Extraktionsdauer zwischen 3 bis 5 Stunden.

Art	Individuenpaar	Extrakt	Farbe der Probe	Resultat
Salix caprea, Blätter	1	0,25 ccm	♂ rosa, ♀ entfärbt	entgegenges. *Manoiloff*
Salix alba, Blätter	4	1 „	in 3 Fällen ♀ rosa und ♂ entfärbt oder heller gefärbt, in 1 Fall beide Proben gleich gef.	hauptsächlich übereinstimmend m. *Manoiloff*
Salix alba, Infloreszenzen .	2	1 ccm, aus im vorigen Fall nach *Manoiloff* reagierten Individuen	♂ stark gefärbt, ♀ entfärbt	entgegenges. *Manoiloff*
Salix purpurea, Blätter . .	1	0,15 ccm	beide gleich gefärbt	dasselbe
Rhodiola rosea, Blätter . . .	1	1 „	♂ ein wenig dunkler	„
„ „ , Blüten . . .	1	3 ccm, dieselben Individuen wie im vor. Fall	beide Proben gefärbt, doch ♀ stärker	übereinst. m. *Manoiloff*
Petasites albus, Blätter . . .	1	3 ccm	♀ stark, ♂ schwach gefärbt	dasselbe
Melandrium rubrum, Blätter	13	3 „	in 8 Fällen ♂ stärker gefärbt als ♀, in 4 Fällen vice versa, in 1 Fall gleich gefärbt	entgegenges. *Manoiloff*

Reduktionsvermögen bei männlichen Infloreszenzen aus *Carpinus* und *Fagus* konstatieren können. Wahrscheinlich könnte die *Manoiloff*sche Reaktion mit Vorteil angewandt werden, um derartige Veränderungen auch in anderem Material zu demonstrieren; sie bedarf jedoch dann in hohem Grade einer Umarbeitung; so spielt z. B. das Papayotin gar keine nützliche Rolle.

Zusammenfassung.

1. Die von *Manoiloff* ausgearbeitete Reaktion ist quantitativer und nicht, nach der Ansicht des Entdeckers, qualitativer Beschaffenheit.

2. Somit stellt die Menge der vorhandenen organischen Substanz hinsichtlich des Reaktionsresultats einen besonders wichtigen Faktor dar.

3. Im Reaktionsmechanismus haben wir es nicht mit der Wirkung irgendwelcher Enzyme und noch viel weniger irgendwelcher Geschlechtshormone zu tun, sondern das Ergebnis beruht im wesentlichen auf der allgemeinen Fähigkeit organischer Substanzen, mehr oder weniger Permanganat zu reduzieren. Diese Annahme wird durch den Umstand bestärkt, daß es möglich ist, dieselben Reaktionen bei Anwendung von ausschließlich anorganischen reduzierenden Substanzen hervorzurufen.

4. Das Papayotin spielt gleichfalls keine andere Rolle und ist daher ohne jegliche Bedeutung für die Ausführung der Reaktion.

5. Der vorgeschriebene Farbstoff (Dahlia, Methylviolett) spielt teilweise die Rolle einer organischen reduzierenden Substanz; aber zugleich wird durch diesen Stoff indiziert, ob die oxydierenden oder die reduzierenden Stoffe im Überschuß vorhanden sind. Im ersteren Falle wird der Farbstoff völlig zerstört und die Probe wird farblos, im letzteren Falle bleibt er zum größeren oder kleineren Teil zurück, was durch eine stärkere oder schwächere Färbung der Probe gekennzeichnet wird.

6. Das Permanganat spielt die Rolle eines Oxydationsmittels und durch Zusatz einer bestimmten Quantität erhält man ein Maß der in der Probe vorhandenen Menge reduzierender Substanz.

7. Durch das Thiosinamin wird vorhandener Überschuß an Oxydationsmittel reduziert, das sich dann in der Probe in Form von Braunstein oder Permanganat befand; die Frage, inwieweit durch das Thiosinamin vorher oxydierte, entfärbte Farbstoffverbindungen zu gefärbten Verbindungen reduziert werden können, haben wir nicht beantworten können.

8. Wir haben dadurch, daß wir organisches Material sehr verschiedenen Ursprungs untersuchten, zeigen können, daß die größere oder kleinere Menge vorhandener reduzierender Substanz sich keineswegs mit Hilfe der *Manoiloff*schen Reaktion als etwas Spezifisches

für verschiedene Geschlechter nachweisen läßt, und ist es uns ganz unmöglich gewesen, die regelmäßigen Reaktionsverhältnisse zu konstatieren, die *Manoiloff*, *Satina* u. a. zu entdecken geglaubt haben.

9. In der gerichtlich-medizinischen Praxis können die vorher angeführten Gründe wegen *Manoiloffs* Methode keinen Eingang finden.

Literatur.

Grünberg, Wratscheb. Gazet. 1924 (Ref. von *Manoiloff* s. u.). — *Manoiloff*, Münch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 51. — *Satina* und *Demerec*, Science **62**, 1925. — *Satina* und *Banta*, Year Book of the Carnegie Institution of Washington **24**, 1925. — *Satina* und *Blakeslee*, Proc. of the Nat. Acad. of Science U. S. A. **12**, 1926 (2. Abhandl.). — *Wurtz* und *Bouchut*, C. r. de l'Acad. des Sc. **89**, 1879.

Zur Chemie und Physiologie der Pflanzenphosphatide.

III. Mitteilung:

Die wasserlöslichen und wasserunlöslichen Phosphatide aus Pisum arvense unicolor. (Möystad, gelbgrüne Erbse, Ernte 1925.)

Von

V. Grafe und H. Magistris.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Neuen Wiener Handelsakademie.)

(Eingegangen am 20. Juni 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Nachdem wir uns bereits in unseren früheren, diesem Gegenstande gewidmeten Mitteilungen mit den Phosphatiden aus Zuckerrübe und Aspergillus oryzae beschäftigt hatten[1]), wendeten wir uns in der weiteren Folge der Isolierung und Untersuchung der Phosphatide aus Möystaderbsen zu, da dieses Material, wie schon *Hansteen Cranner* feststellen konnte[2]), ungemein viel Phosphatide liefert und dieselben nach dem genannten Forscher ausgesprochene B-Vitaminwirkung zeigen sollen.

Bezüglich der Darstellung der Phosphatide in nativem Zustande sei auf unsere früheren Untersuchungen[3]) verwiesen und nur erwähnt, daß beim Arbeiten außerhalb des Eiskastens, namentlich in den Sommermonaten, alsbald Bakterieninfektion der Dialysate eintrat, welche uns zu besonderen Vorsichtsmaßregeln zwang, die im folgenden eingehalten wurden.

Das Erbsenmaterial wurde nämlich zuerst mit 30grädigem Wasser gründlich gewaschen, dann mit 2prom. Sublimatlösung gespült, hierauf

---

[1]) *V. Grafe*, *V. Grafe* und *V. Horvat*, *V. Grafe* und *H. Magistris*, diese Zeitschr. **159**, 445, 1925; **159**, 449, 1925; **162**, 366, 1925.

[2]) *Hansteen Cranner*, Meldinger fra Norges Landbrukshoiskole 1925.

[3]) *V. Grafe*, l. c.

mit 50proz. Alkohol und schließlich wieder mit Leitungswasser durchgewaschen. Die Lebens- und Keimfähigkeit des Materials hatte durch diese Behandlung keinen Schaden gelitten. Die so behandelten Erbsen wurden schließlich in großen flachen photographischen Entwicklerschalen, die vorher durch Abflammen sterilisiert worden waren, mit der dreifachen Menge destillierten Wassers der Dialyse bei 17 bis 20° durch 48 Stunden unterzogen. In jede solche Schale gelangte stets nur 1 kg Material zur Aufarbeitung; wurde, wie es für die nachfolgenden Analysenzahlen notwendig war, gleichzeitig mit größeren Erbsenmengen (im vorliegenden Falle wurden 5 kg davon gleichzeitig verarbeitet) gearbeitet, so wurden entsprechend viele Schalen aufgestellt und die gewonnenen Dialysate vereinigt.

Das Dialysat war gelb gefärbt und zeigte eine grobflockige Trübung, die mit Bakterien nichts zu tun hatte; überhaupt wurde jede gewonnene Fraktion nach den üblichen Methoden der bakteriellen Untersuchung unterzogen, was im folgenden nicht besonders erwähnt werden wird. Das Dialysat wurde dann durch Chamberlandkerzen gezogen, die vor jeder Filtration mit Salpetersäure, Natronlauge und Wasser gereinigt wurden. Die zur Aufnahme des Filtrats bestimmten Kolben wurden gleichfalls steril gehalten. Die Filtrate waren absolut klar, geruchlos und hellgelb. Sie reagierten gegen Lackmus neutral, schäumten stark und alle angestellten Eiweißreaktionen fielen negativ aus.

Millon gibt graubraunen Niederschlag, Biuretreaktion graublauen Niederschlag mit überstehender blauer Lösung, Adamkiewiczreaktion roten Ring auch ohne Zusatz von Glyoxylsäure mit bloßer Schwefelsäure, Xanthoproteinreaktion gibt braune Fällung, wahrscheinlich als Zersetzungsprodukt, Pikrinsäure keine Fällung.

Die klare Lösung wurde unter Darüberleiten eines Luftstroms in der früher (l. c.) beschriebenen Weise bei höchstens 35° am Wasserbad konzentriert und lieferte mit den verschiedensten Schwermetallsalzen wie Bleiacetat Cadmiumchlorid, Uranylacetat, Quecksilberchlorid, Kupferacetat, ferner mit Calciumacetat, Aluminiumchlorid, Phosphorwolframsäure grobflockige, sich gut absetzende Niederschläge. Das von diesen Niederschlägen abfiltrierte klare Filtrat liefert dann mit Bleiacetat in ammoniakalischer Lösung einen hellgelben Niederschlag, das Filtrat von diesem gibt mit 95proz. Alkohol eine weiße Fällung, die größtenteils aus Mineralsalzen und Kohlehydraten besteht. Das Filtrat der Alkoholfällung ist in starker Konzentration weinrot und enthält noch immer P und N, es reduziert *Fehlings* Lösung stark.

Um zu untersuchen, ob die Fällung mit den genannten Schwermetallsalzen einheitlicher Natur ist, wurde die Ausfällung des Dialysats mit n/2 neutraler Bleiacetatlösung in Abstufungen von 10 : 10 ccm fraktioniert durchgeführt und die einzelnen Fällungsfraktionen, jede für sich, auf ihre P : N-Relation geprüft. Nach der ersten 48stündigen

Dialyse wurden die Erbsen jedesmal neuerdings in der früher geschilderten Weise mit desinfizierenden Lösungen gewaschen und von neuem einer 48stündigen Dialyse gegen Wasser unterzogen. Es gelang, auf diese Weise vier Dialysate herzustellen, die alle vollkommen eiweißfrei waren, erst das fünfte gab positive Eiweißreaktion, wobei die Erbsen aber bereits stark erweicht und im Keimen begriffen erschienen. Damit erscheint auch der Beweis geliefert, daß von organischen Zellstoffen bei völliger Intaktheit des Zellenlebens ausschließlich und massenhaft Phosphatide in wässerige Außenlösungen austreten, und daß wohl auch im normalen Wechselwirken des Samens und auch anderer Organe (Wurzeln) und Organismen (Aspergillus oryzae) mit den umgebenden Medien ein solcher Austausch von organischen Komplexen stattfindet, wobei die diffusiblen Phosphatide die Rolle der Transportmittel spielen; dazu eignen sie sich ganz besonders durch ihre Fähigkeit, die verschiedensten Molekulargruppen zu binden und in veränderter oder reaktionsfähigerer Form wieder abzugeben. Dazu kommt noch, daß diese diffusiblen, aber dabei hochmolekularen Phosphatide schon innerhalb sehr enger Grenzen ihren Kolloidzustand ändern, dabei aber ihre Quellbarkeit beibehalten, daß sie ferner nie fehlende Bestandteile der unversehrten Zellwand bilden und sicherlich auch die abgrenzenden Phasen des plasmatischen Milieus selbst darstellen. Sie entscheiden also in dieser Eigenschaft über den Ein- und Austritt von Stoffen in die und aus der Zelle und vermitteln überdies den Austausch der Pflanze mit ihrem Nährmedium, welches dadurch gewissermaßen zur Fortsetzung des lebenden Pflanzenkörpers, also selbst zum lebenden Körper wird. Durch diese massenhafte Auswanderung von Phosphatiden aus der Zelle in den Boden gewinnen wir einerseits eine ganz neue Vorstellung von einer regen Exkretionstätigkeit seitens des Pflanzenkörpers, anderseits erfährt dadurch der hohe Gehalt des Ackerbodens an organisch gebundenem Phosphor, auf den *Stoklasa*[1]) zuerst hingewiesen hat, eine natürliche Erklärung.

Die auf die Dialyse und Konzentration folgende fraktionierte Fällung mit Bleiacetat ergab beim ersten Dialysat fünf, beim zweiten vier, beim dritten drei und beim vierten zwei verschiedene Niederschlagsfraktionen.

Die im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrockneten Präparate wurden der Analyse zugeführt[2]) und ergaben folgende Werte:

---

[1]) *J. Stoklasa*, Biochemischer Kreislauf des Phosphations im Boden, Jena 1911.

[2]) Eine Reihe dieser Analysen und sämtliche Kontrollanalysen wurden von Fräulein *I. Klamka*, wissenschaftliche Hilfskraft meines Laboratoriums, durchgeführt, wofür der genannten an dieser Stelle der beste Dank ausgesprochen werden möge.

Dialysat	Substanz mg	ccm NaOH (Titer = 0,021362)	Phosphor mg	Phosphor Proz.	Stickstoff mg	Stickstoff Proz.	P : N	
			I.					
Erste Fällung	86,1	10,96	3,318	3,76	—	—		—
	125,8	14,90	4,488	3,50	—	—	0,36	(1 : 2,7)
	198,1	—	—	—	9,235	4,66		—
	58,9	—	—	—	2,586	4,39		—
Zweite Fällung	137,6	11,7	3,393	2,46	—	—		—
	97,1	7,53	2,229	2,29	—	—	0,31	(1 : 3)
	195,1	—	—	—	6,492	3,55		—
	99,2	—	—	—	3,333	3,36		—
Dritte Fällung	250,6	14,47	4,310	1,72	—	—		—
	240,7	14,38	4,254	1,76	—	—		—
	98,0	—	—	—	1,720	1,75	0,045	(1 : 2,23)
Vierte Fällung	137,2	4,97	1,470	1,07	—	—		—
	118,4	4,93	1,485	1,23	—	—		—
	239,4	—	—	—	3,248	1,35	0,28	(1 : 2,5)
Fünfte Fällung	23,5	0,60	1,775	0,75	—	—		—
	40,7	1,45	0,4289	1,05	—	—		—
	87,2	—	—	—	0,8633	0,99	0,43	(1 : 2,3)
			II.					
Erste Fällung	75,3	10,21	3,02	4,01	—	—		—
	80,9	10,98	3,248	4,01	—	—		—
	92,7	—	—	—	2,725	2,94	0,65	(1 : 1,5)
	36,7	—	—	—	0,9872	2,69		—
Zweite Fällung	78,4	7,59	1,783	2,27	—	—		—
	87,0	7,20	2,130	2,44	—	—		—
	100,1	—	—	—	1,682	1,68	0,63	(1 : 1,6)
Dritte Fällung	102,3	7,56	2,236	2,18	—	—		—
	99,3	7,14	2,112	2,12	—	—		—
	33,4	—	—	—	0,334	1,00		—
	60,1	—	—	—	0,5349	0,89	1,04	(1 : 0,9)
Vierte Fällung	93,8	5,15	1,523	1,62	—	—		—
	67,8	4,08	1,207	1,78	—	—		—
	48,2	—	—	—	0,2747	0,57	1,4	(1 : 0,8)
			III.					
Erste Fällung	76,2	8,82	2,609	3,42	—	—		—
	55,3	7,04	2,083	3,76	—	—		—
	84,9	—	—	—	0,9553	1,13		—
	44,7	—	—	—	0,4336	0,97	1,7	(1 : 0,7)
Zweite Fällung	79,4	6,82	2,017	2,54	—	—		—
	170,5	13,60	4,042	2,37	—	—		—
	65,3	—	—	—	0,4571	0,71	1,6	(1 : 0,62)
Dritte Fällung	48,7	2,28	0,6744	1,38	—	—		—
	56,6	2,48	0,7336	1,29	—	—		—
	38,8	—	—	—	0,256	0,66	0,9	(1 : 0,9)
			IV.					
Erste Fällung	50,6	5,89	1,742	3,44	—	—		—
	112,0	11,30	3,343	2,98	—	—		—
	51,2	—	—	—	2,263	4,42	0,33	(1 : 3)
Zweite Fällung	Die sehr geringe Menge dieser Fraktion konnte aus technischen Gründen nicht untersucht werden.							

Die gewonnenen Zahlen gestatten vorläufig keine Einreihung der isolierten Phosphatide in eine der bereits bekannten Reihen. Im ersten Dialysat halten sich bis auf den dritten Wert, der wohl auf Versuchsfehlern beruhen dürfte, da offenbar infolge Schwankungen der Temperatur bei der Dialyse Zersetzungsprodukte von Proteinen den starken Anstieg der N-Werte bewirkt haben dürften, die Zahlen befriedigend auf dem Verhältnis P : N = 1 : 3. Im zweiten Dialysat erscheint der N-Gehalt bedeutend herabgesetzt und sinkt auf die Hälfte des in der ersten Reihe gefundenen, auf P : N = 1 : 1,5 herab, in den beiden letzten Fraktionen dieses Dialysats ist dieses Herabsinken noch weitergehend bis auf P : N = 1 : 0,7 und hält sich im dritten Dialysat ungefähr auf der gleichen Höhe; die letzte Zahl dieses Dialysats und die einzige des vierten können nicht mehr als reguläre Werte betrachtet werden. Bei der äußerst schonenden Gewinnung der Dialysate und bei der Konstanz der Zahlenwerte innerhalb der einzelnen Fraktionen können Zersetzungsprozesse wohl nicht als Verursacher der gewonnenen Zahlen angesehen werden, vielmehr handelt es sich hier sicherlich um Gesetzmäßigkeiten, deren Enträtselung späteren Arbeiten vorbehalten bleiben muß. Eine Schwierigkeit bildet hier die Tatsache, daß aus einem bestimmten Material nur wenig Phosphatidmaterial gewonnen werden kann und daß schon die P : N-Relation, geschweige denn der Gesamtaufbau des Phosphatids durch die verschiedensten äußeren Verhältnisse solche Änderungen erfährt, daß bei aufeinanderfolgenden Analysen verschiedenen Materials, wenn auch derselben Ausgangsprodukte, z. B. Erbsen derselben Sorte und Ernte, schon ganz verschiedene Zahlen resultieren können. Ja sogar schon durch längere Lagerung eines und desselben Ausgangsmaterials können solche Verschiedenheiten eintreten, offenbar spielen eben die Phosphatide im Leben der verschiedenen Organismen und in der Funktion der Organe eine bedeutende Rolle als Vermittler der Lebensreaktionen, indem sie wohl die Aufgabe erfüllen, Komponenten der Zelle an sich zu binden und in wirksamerer Form abzugeben. Ihre chemische Beweglichkeit prädestiniert sie zur Rolle der plasmatischen Wandsubstanz, welche sich je nach den permeierenden Stoffen in ihrer Zusammensetzung ändert, worauf ja wohl die Anpassungsfähigkeit des Plasmas und seiner Reaktionen auf äußere stoffliche Einflüsse beruht. Aber gerade dadurch erwachsen der chemischen Definition die größten Schwierigkeiten, da es sich eben nicht um einheitliche Stoffe, sondern um je nach den äußeren Bedingungen verschiedene und fortwährend wechselnde Komplexe handelt, an deren Gerüst akzessorische Gruppen der verschiedensten Art gebunden sein können. Die Rolle, die früher nach dieser Richtung den Proteinen zugeschrieben worden ist, teilen sicherlich in hervorragender Weise die Phosphatide mit diesen, und vielfach dürfte der in Zellsubstanzen oder

aus diesen ausgeschiedenen Stoffen gefundene Phosphor nicht aus den Eiweißstoffen, sondern aus den Phosphatiden stammen. Das ist der Fall bei zahlreichen organoiden Substanzen der Zelle, wie bei den Stärkekörnern und dem Aleuron; ebenso dürfte der manchen Zellprodukten wie vielen Enzymen hartnäckig anhaftende Stickstoff weder dem originalen Molekül dieser Stoffe angehören, noch aus dem Eiweiß stammen, sondern Reste des Phosphatids darstellen, denn sicherlich stehen gerade die Enzyme zum Permeabilitätsmechanismus der Zelle ebenso wie in funktioneller, so auch in chemisch-molekularer Beziehung. In diesem Zusammenhang erscheint es auch bemerkenswert, daß in allen bisher untersuchten Objekten verschiedenster Art, wie Zuckerrübe, Aspergillus oryzae, Erbse, Banane, von uns Kohlehydratgruppen und Farbstoffkomponenten gefunden wurden, welche letzteren durch HCl abspaltbar sind und in die Gruppe der Anthocyanine gehören dürften. Damit rücken auch diese Farbstoffe bzw. deren Leucoverbindungen in eine physiologisch wichtigere Gruppe, als bisher angenommen worden war.

Die Anthocyanine sind ja sonst bekanntlich vornehmlich in den Endgliedern des physiologischen Geschehens wie in Blüten und Früchten und nur ausnahmsweise in solchen Pflanzenteilen zu finden, die sich aktiv am Stoffwechsel beteiligen. Das regelmäßige Vorhandensein derselben in Bindung mit den für das Zellgeschehen so wichtigen Phosphatiden weist ihnen aber auch eine bedeutungsvolle Rolle beim Stoffwechsel der Zelle, sei es bei deren Aufbau- oder wahrscheinlicher bei deren Abbauvorgängen, zu. Das gleichfalls bisher immer konstatierte Vorhandensein von Kohlehydratgruppen oder Kohlehydraten am Molekül oder in Verbindung mit dem Phosphatid ist nicht weniger bemerkenswert, mögen die genannten Komponenten am molekularen Aufbau des Phosphatids teilnehmen oder adsorptiv an dasselbe gebunden sein, wie es dem kolloiden Charakter der Phosphatide entspricht. Schon bei den Phosphatiden der Zuckerrübe wurden solche Kohlehydratgruppen gefunden, denselben aber damals keine Beachtung geschenkt, dieselben vielmehr als Verunreinigung behandelt. Später wurden sie bei der Analyse der Aspergillus-Phosphatide als immanenter Bestandteil des Phosphatids selbst erkannt und auch bei den Phosphatiden der Erbse erschienen sie als stete Begleiter der in Rede stehenden Substanzen; der Versuch einer „Reinigung" von denselben verlief als „Denaturierung".

Wenn die Dialyse der Erbsen in schwach soda-alkalischer Lösung vorgenommen wurde, konnte beobachtet werden, daß die Dialysate auffallend braunrot gefärbt, dabei aber völlig klar ausfielen. Bei den Versuchen zur Gewinnung der Farbbase, auf die später zurückzukommen sein wird, wurde beim Ausschütteln mit Amylalkohol eine gallertige

Fällung erhalten, die an der Luft zu einer zähen papierähnlichen Masse eintrocknete, wie sie schon *Hansteen Cranner*[1]) beschrieben hat, die keinen Phosphor enthielt, dafür aber reich an Stickstoff war, keine Reaktion mit *Fehling*scher *Lösung* ergab, beim Erhitzen karamelisierte und beim Verbrennen am Platinblech keine Asche hinterließ. In starker NaOH war die Substanz glatt löslich, fiel mit Säuren wieder aus und färbte sich dabei unter Zersetzungserscheinungen braun. Die Zersetzungsstoffe ähneln auffallend den durch Alkalibehandlung aus Kohlehydraten resultierenden Huminsäuren.

Es sei noch darauf hingewiesen, daß außer der fraktionierten Fällung mit Bleiacetat auch jedesmal die Totalfällung durchgeführt wurde, deren nähere analytische Daten unten folgen werden. Zu einer solchen Totalfällung waren sehr wechselnde Mengen des Fällungsmittels erforderlich, mitunter sogar weniger, als der erste Niederschlag bei der fraktionierten Fällung verbraucht hatte. Das hängt von den verschiedensten Umständen ab, so daß ebenso hierfür wie überhaupt für die Zusammensetzung der Phosphatide chemische Gesetzmäßigkeiten nicht aufgestellt werden können.

Wir haben es eben bei dieser Körperklasse mit Zellstoffen zu tun, deren Molekularkern einheitlicher Natur sein kann, ein Kern, der vielleicht dem Lecithingerüst entsprechen mag, an dem aber fallweise akzessorisch die verschiedensten Molekulargruppen hängen können, aus denen dann die eigentlichen Plasmastoffe hervorgehen mögen, so daß dieser Auffassung nach die Phosphatide die chemischen Vermittler des eigentlichen Lebensmechanismus darstellen würden, wesentlich besonders für die Nucleoproteide und damit für die Vorgänge bei der Karyokinese und den Vererbungserscheinungen. Auch das in Pflanzenextrakten wiederholt aufgefundene Phytin dürfte als Spaltungsprodukt der Phosphatide aufzufassen sein, wie das auch tatsächlich mit vollem Recht versucht wurde[2]). Jedenfalls gehört der aufgefundene Phosphor weder anorganischen P-Verbindungen noch der Nucleinsäure und deren Verbindungen an. Mit der Frage nach den akzessorischen, an den Phosphatidkomplex gebundenen Molekulargruppen hängt unmittelbar auch die Frage der Aufklärung von Enzym- und Vitaminwirkungen zusammen, also wie man sieht, ein umfangreicher und wichtiger Fragenkomplex. Im Zusammenhang damit steht die von uns studierte Frage, ob Phosphatide oder deren Spaltungsprodukte bereits in den ruhenden Erbsensamen vorliegen oder ob sie erst im Verlaufe der Keimung aus vorgebildeten Stoffen hervorgehen. Zur Gewinnung des Phosphatid-„kernes" ist vielleicht die Beobachtung von Bedeutung, daß die Dialysate nur mit basischen, nicht aber mit sauren organischen Farbstoffen

[1]) *Hansteen Cranner*, Meldinger fra Norges Landbrukshoiskole **2**, 1922.

[2]) *A. Monath*, Weitere Beiträge zur Biochemie und Physiologie der pflanzlichen Zellphosphatide, Meldinger fra Norges Landbrukshoiskole 1925, S. 23, herausgegeben von *V. Grafe*.

Niederschläge geben, die sich als Salzbildungen der als sauer zu charakterisierenden Phosphatide nach stöchiometrischen Verhältnissen erweisen dürften. Solche Verbindungen mit diesen oder anderen basischen Komplexen, vielleicht auch einfacherer Natur, würden dann eine Isolierung solcher Phosphatid-„kerne" ermöglichen, worüber in einer besonderen Mitteilung berichtet werden soll. Besonderes Interesse bietet auch das Studium der Übergänge der wasserlöslichen und wasserunlöslichen Phosphatide ineinander, die unter anderen eine Funktion der Temperatur sind.

Hansteen Cranner[1]) unterscheidet zwei Phosphatidfraktionen, eine in Wasser vollkommen lösliche, die aus den Geweben bei Temperaturen bis zu 20° austritt, und eine in Wasser unlösliche, die erst bei Temperaturen von 25 bis 30° durch die Zellwände diffundiert und eine Trübung der Dialyseflüssigkeit bewirkt. Schon in unseren Untersuchungen über die Phosphatide bei Aspergillus oryzae (l. c.) wurde die Anschauung ausgesprochen, daß es sich hier um Zustandsänderungen eines und desselben Stoffes handeln dürfte, eine Anschauung, die durch die vorliegenden Untersuchungen erhärtet wurde. Jedenfalls bestehen zwischen den wasserunlöslichen, aber in Wasser quellbaren Phosphatiden, die nach *Hansteen Cranner* das feste Dispersionsmittel der plasmatischen Grenzschichten bilden, und den wasserlöslichen der dispersen Phasen dieser Schichten physikalische und chemische Beziehungen. Um das festzustellen, wurde zunächst der Austritt der Phosphatide bei der Dialyse quantitativ verfolgt.

Je 40 g Erbsen wurden in sterilen Gefäßen mit 600 ccm destillierten Wassers 48 Stunden bei 17° dialysiert[2]) und von 8 zu 8 Stunden in den

Nr.	Gefällt nach Stdn.	Trockensubstanz der Bleifällung	
		lösliche Fraktion g	unlösliche Fraktion g
1	8	opalisierend, keine Fällung	0
2	16	1,10	0,13
3	24	1,57	0,21
4	32	1,82	0,56
5	40	1,93	0,84
6	48	2,11	1,16
	Dialysat aus der parallelen Versuchsanstellung bei 35° im Termostaten gehalten.		
7	8	0,73	0 (minimale Trübung)
8	16	1,05	0,19
9	24	1,68	0,73
10	32	2,10	1,21
11	40	2,52	1,69
12	48	2,68	1,94

[1]) *Hansteen Cranner*, l. c.

[2]) Nach unseren Erfahrungen tritt die „unlösliche" Fraktion, entgegen den Feststellungen *Hansteen Cranners*, nicht erst bei 20 bis 25° aus, sondern bei *jeder* Temperatur in erheblichen Mengen, die allerdings mit der Höhe der Temperatur wächst; es kann natürlich diese unlösliche Fraktion ebensowohl bei der Dialyse in die Außenflüssigkeit direkt aus der Zelle austreten, oder sich erst nach der Dialyse aus der löslichen bilden.

einzelnen Gefäßen die Phosphatide mit n/2 Bleiacetatlösung, die mit einigen Tropfen Ammoniak versetzt worden war, gefällt. Der unlösliche Anteil des Dialysats wurde durch Filtration über einen Glasgooch von der löslichen Fraktion getrennt, in Wasser suspendiert und ebenfalls mit Bleiacetat gefällt[1]).

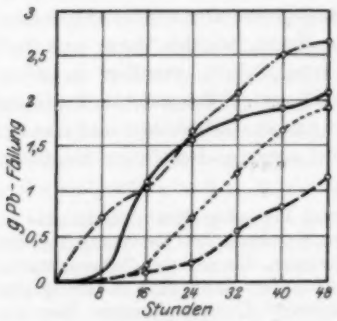


Abb. 1.
----- Wasserunlösl. Phosphat. bei 35°.
-·-·- Wasserlösl. Phosphatide bei 35°.
– – – Wasserunlösl. Phosphat. bei 17°.
—— Wasserlösl. Phosphatide bei 17°.

Die vorstehende Tabelle gibt eine Übersicht der erhaltenen Werte.

Die erhaltenen Werte sind in beistehender Kurve dargestellt, sie zeigen den Anstieg in der Bildung der unlöslichen Fraktion in Abhängigkeit von der Temperatur bzw. der Zeit, nach welcher die Fällung stattgefunden hat. Der Austritt der beiden Fraktionen erwies sich als mit der Temperatur reversibel, CO_2-Atmosphäre befördert den Austritt der unlöslichen Fraktion, wie die nachfolgende Versuchstabelle zeigt.

Je 15 g Erbsen wurden im sterilen Kolben mit 400 ccm H_2O angesetzt. Die in der Tabelle erscheinenden Zeichen sind folgendermaßen zu verstehen:

1 = Behandlung der Lösung,
2 = Zeit in Stunden,
3 = lösliche Fraktion,
4 = unlösliche Fraktion,
+++ = starke flockige Suspension, setzt sich rasch ab und ist gut filtrierbar,
++ = kleinflockige Suspension, setzt sich erst nach mehrtägigem Stehen ab.
+ = Trübung, mit bloßem Auge gut erkennbar,
(+) = Trübung, mit bloßem Auge gerade noch erkennbar.

	15°		30°	
1	Mit CO_2 gesättigt	—	Mit CO_2 gesättigt	—
2	20	20	20	20
3	+	+	+	+
4	—(+)	—	++	+

Jetzt die Erbsen gewaschen und bei veränderter Temperatur dialysiert:

	30°		15°	
1	Mit CO_2 gesättigt	—	Mit CO_2 gesättigt	—
2	24	24	24	24
3	+	+	+	+
4	++	+	—	—

[1]) Für die hochkolloiden, schwer zu filtrierenden Niederschläge war die Verwendung besonderer Glasfilter notwendig, die uns von dem Glaswerk Schott & Gen., Jena, in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt wurden; wir sagen der genannten Firma dafür besten Dank.

Damit ist also gezeigt, daß eine durch eine Chamberlandkerze filtrierte, vollkommen klare, bakterienfreie Phosphatidfraktion durch nachträgliche Einwirkung des Milieus oder rein physikalische Momente in ihrem Zustande verändert und wasserunlöslich gemacht werden kann. Ein bei 20° gewonnenes, in der üblichen Weise filtriertes und konzentriertes Dialysat der Erbsen wurde in mehrere Teile geteilt und jeder von diesen gesondert behandelt. Für die Beurteilung war die Intensität der gebildeten unlöslichen Suspension maßgebend. Jede der Lösungen und Suspensionen wurde genauestens auf Bakteriengehalt geprüft und infizierte Lösungen ausgeschieden, so daß auch die schwächste beobachtete Trübung lediglich durch Phosphatidsuspensionen und keinesfalls durch Bakterien hervorgerufen erscheint.

Versuch Nr.	Behandlung der Lösung	Stdn.	Temperatur °	Unlösliche Fraktion gebildet	Bemerkungen
1	Stehen im Dunkelraum	52	40	+	Alle Lösungen in sterilen Kolben.
2	„ „ „	52	17	(+)	
3	„ „ diffusen Licht	48	17	(+)	
4	Im direkten Sonnenlicht	24	22	+	
5	Luft durchgeleitet . . .	24	17	+	
6	In O-Atmosphäre . . .	48	0	(+)	
7	„ „ . . .	48	40	++	
8	„ N-Atmosphäre . . .	48	17	—	
9	„ „ . . .	48	40	—	
10	„ „ . . .	12	17	+	Nach einmaligem kurzen Aufkochen.
11	Durchleiten von trockenem Cl_2	12	17	+	
12	In CO_2-Atmosphäre . .	60	25	+	Selbst CO_2 bewirkt Denaturierung.
13	„ „ . .	60	17	(+)	
14	Mit n-K_2SO_4-Lösung versetzt*)	48	30	++	Grobflockige braune Fetzen in der Lösung.
15	Mit n-Traubenzuckerlösung versetzt**) . .	48	30	+++	
16	Auf d. Schüttelmaschine	48	20	+	
17	Durchleiten von H_2S .	8	20		

*) 1000 g mit 30grädigem Leitungswasser gewaschene und mit Sublimatlösung gespülte (wodurch die Lebensfähigkeit nicht beeinträchtigt wurde) Erbsen wurden mit 3 Liter destillierten Wassers durch 36 Stunden in den Thermostaten bei 30° gesetzt. Das Dialysat war wie immer gelb gefärbt, neutral, roch nur nach Erbsen und enthielt die unlösliche Fraktion, die abfiltriert wurde; zum Filtrat kam festes K_2SO_4 in einer Menge hinzu, daß es in der Flüssigkeit in normaler Konzentration vorhanden war (auch mit K_2SO_4-Zusatz bis Halbnormalität ist die Fällung schon zu erzielen), worauf wiederum nach mehrtägigem Stehen unlösliche Fraktion sich ausschied, die sich in Flocken als grober Niederschlag am Boden des Gefäßes absetzte. Nach Filtrieren durch einen Glasgooch war der Extrakt vollkommen klar und gab keine Reaktion auf Eiweißstoffe. Die Suspension wurde gespalten und enthielt ebenso wie die ursprüngliche unlösliche Fraktion die normalen Spaltungsprodukte.

**) Die Fällung durch Traubenzuckerlösung war wesentlich stärker als die durch Kalisulfat, indessen zeigte die fettige Oberfläche, daß wohl schon eine teilweise Spaltung unter Bildung von Fettsäuren eingetreten war.

Über den Einfluß von Salzionen verschiedener Konzentration und Wertigkeit auf die Bildung unlöslicher Phosphatide.

Die bemerkenswerten Beziehungen von Alkali- und Erdalkaliionen verschiedener Konzentrationen zu den löslichen und unlöslichen Phosphatiden sind schon *Hansteen Cranner* aufgefallen (l. c.), indem nach seinen Feststellungen Alkali- (und Mg-) Ionen das Austreten wasserunlöslicher Phosphatide aus der Zelle in die Dialysierflüssigkeit befördern, Erdalkalien hemmen. Daß dieses Verhalten von eminenter physiologischer Bedeutung sein muß, ist klar, da hierdurch reversible oder irreversible Permeabilitätsänderungen in der Zelle gesetzt werden. Damit gehen die Veränderungen durch Temperaturänderungen parallel und für die Wirkungen sind Anion und Kation additiv maßgebend, wie *Kaho*[1]) in einer Reihe wichtiger Arbeiten gezeigt hat. Auch wir haben diesem Gegenstand schon früher unsere Aufmerksamkeit gewidmet[2]) und entsprechende Versuche auch bei dieser Gelegenheit wieder angestellt.

Es wurden n/100- und n-Lösungen von KCl, $CaCl_2$ und $MgCl_2$ verwendet und je 10 g Erbsen teils bei 15 bis 17°, teils bei 30° mit je 300 ccm Wasser dialysiert. Zuerst 40 Stunden bei 17° in n/100-Lösungen gelegt, dann gewaschen und in die n-Lösungen eingelegt. Die Flüssigkeit blieb klar, wenn in $CaCl_2$-Lösung eingelegt worden war, trübte sich nach 15 Stunden bei 30° in KCl-Lösung, nach 40 Stunden in $MgCl_2$-Lösung. In normalen Lösungen waren auch bei 30° keine unlöslichen Phosphatide entstanden. Die Reihe der fällenden Kationen lautet in Übereinstimmung mit den Befunden von *Hansteen Cranner*: Ca > Mg > K.

In der folgenden Tabelle bedeutet 1 die Lösung, in welche die Erbsen gelegt wurden, 2 die Zeit in Stunden, 3 die löslichen Phosphatide und 4 die unlöslichen Phosphatide.

17°.

1	n/100 KCl	n/100 $CaCl_2$	n/100 $MgCl_2$	n KCl	n $CaCl_2$	n $MgCl_2$
2	40	40	40	30	30	30
3	+	+	+	+	+	+
4	—	—	—	—	—	—

30°.

1	n/100 KCl	n/100 $CaCl_2$	n/100 $MgCl_2$	n KCl	n $CaCl_2$	n $MgCl_2$
2	20	20	20	50	40	50
3	+	+	+	+	+	+
4	+*)	—	—**)	—***)	—	—***)

*) Schon nach 15 Stunden. **) Erst nach 40 Stunden. ***) Schwach opaleszent.

Obige Lösungen bewirkten in Konzentrationen n/50 und n bei 15° durch 20 bis 50 Stunden den Austritt der löslichen, aber keine unlösliche Fraktion, dagegen bei 30° die Alkalilösungen schon nach 30 Minuten starken Austritt der unlöslichen Fraktion in Konzentrationen n/50 und n, während $CaCl_2$-Lösungen in n/50-Konzentration nach 30 Stunden eine leichte Trübung, in n-Konzentration aber noch nach 48 Stunden keinerlei Austritt der unlöslichen Fraktion zeigten.

[1]) *H. Kaho*, diese Zeitschr. **117**, 87, 1921; **120**, 125, 1921; **122**, 39, 1921; **144**, 104, 1924; **151**, 102, 1924; **167**, 25, 1926; **182**, 1926 und besonders Über die physiologische Wirkung der Neutralsalze auf das Pflanzenplasma, Dorpat 1924.

[2]) *V. Grafe* und *V. Horvat*, l. c.

1	n $CaCl_2$	n/2 $CaCl_2$	n/4 $CaCl_2$	n/8 $CaCl_2$	n/10 $CaCl_2$	$Ca(ON)_2$ ges. Lsg.	n KCl	n/2 KCl
2	—	—	—	—	—	+	—	—
3	—	—	—	+	+	+	(+)	+
1	n/4 KCl	n/8 KCl	n/10 KCl	n/100 $CaCl_2$ + $Ca(ON)_2$ ges. Lsg.	n $Ca(NO_3)_2$	n/2 $Ca(NO_3)_2$	n/4 $Ca(NO_3)_2$	n/8 $Ca(NO_3)_2$
2	—	—	—	+	—	—	—	—
3	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+
1	n/2 KCl + n/2 $CaCl_2$	n/4 KCl + n/4 $CaCl_2$	n/8 KCl + n/8 $CaCl_2$	n/8 KCl + n $CaCl_2$	n/8 KCl + n/2 $CaCl_2$	n/2 KCl + n/4 $CaCl_2$	n/4 KCl + n $CaCl_2$	n/4 KCl + n/2 $CaCl_2$
2	—	—	—	—	—	—	—	—
3	(+)	+	+	—	—	+	—	—
1	n/2 KCl + n $CaCl_2$	n/2 KCl + n/4 $CaCl_2$	n $MgCl_2$	n/2 $MgCl_2$	n/4 $MgCl_2$	n/8 $MgCl_2$	n/10 $MgCl_2$	n/2 $MgCl_2$ + n/2 $CaCl_2$
2	—	—	—	—	—	(+)	+	—
3	—	+	—	—	+	+	+	+
1	n/4 $MgCl_2$ + n/4 $CaCl_2$	n/8 $MgCl_2$ + n/8 $CaCl_2$	n/8 $MgCl_2$ + n $CaCl_2$	n/8 $MgCl_2$ + n/2 $CaCl_2$	n/2 $MgCl_2$ + n/4 $CaCl_2$	n/4 $MgCl_2$ + n $CaCl_2$	n/4 $MgCl_2$ + n/2 $CaCl_2$	n/2 $MgCl_2$ + n $CaCl_2$
2	—	(+)	—	—	—	—	—	—
3	+	+	—	—	+	—	—	—
1	n/10 KCl + n/10 $MgCl_2$	n/10 $MgCl_2$ + n/2 $CaCl_2$	n/2 KCl + n/2 $MgCl_2$ + n $CaCl_2$	n/2 KCl + n/2 $MgCl_2$ + n/2 $CaCl_2$	CO_2	CO_2 dosiert	Leuchtgas	Leuchtgas dosiert
2	+	—	+	+	−(+)	−(+)	+	+
3	+	—	+	+	+	+	+	+

1 = Lösungen, in welche die Erbsen eingelegt wurden, bevor sie der Dialyse unterworfen wurden.
2 = Bezeichnung des Vorhandenseins wasserlöslicher Phosphatide in den obigen Lösungen.
3 = Vorhandensein oder Nichtvorhandensein wasserunlöslicher Phosphatide im Dialysat.
Dosiert einleiten = durch 6 Stunden, d. h. so lange, als die Erbsen sonst in den Salzlösungen lagen.

Gesamtausfällung des Erbsenphosphatids.

Außer der vorher beschriebenen fraktionierten Ausfällung der Phosphatide aus den Dialysaten wurde eine Gesamtausfällung mit Bleiacetat durchgeführt, welche in der schon wiederholt beschriebenen Weise angestellt wurde. In der mit Schwefelsäure entbleiten Ausfällung wurde zunächst die P- und N-Bestimmung vorgenommen.

0,1684 g Substanz verbrauchten 9,76 ccm NaOH, entsprechend 2,887 mg P . . . . . = 1,714 Proz.

0,2980 g Substanz verbrauchten 12,19 ccm NaOH, entsprechend 3,591 mg P . . . . . = 1,448 „

0,1834 g Substanz gaben bei der Kjeldahlbestimmung 2,101 mg N. . . . . = 1,14 „

0,1556 g Substanz gaben bei der Kjeldahlbestimmung 2,116 mg N. . . . . = 1,36 „

Im Mittel enthielt also das Phosphatid *1,581 Proz. P und 1,25 Proz. N*, d. i. P : N = 1 : 1,8, annähernd ein *Diaminomonophosphatid*.

Spaltung mit 5 proz. H_2SO_4. 48,08 g Trockensubstanz wurden mit der zehnfachen Menge der Säure zuerst am Wasserbad und dann nach Aufhören des Schäumens über freier Flamme unter Rückfluß erhitzt, der $PbSO_4$-Niederschlag abfiltriert, mit heißem Wasser und heißem Alkohol gewaschen und das schwefelsaure Filtrat so lange im Scheidetrichter mit Äther behandelt, als sich dieser noch anfärbte. Die Beschreibung der genauen Arbeitsweise kann in unserer früheren Abhandlung (l. c.) nachgelesen werden. Das ausgeschiedene $PbSO_4$ erschien von enthaltenen Fettsäuren braun gefärbt und auch das Filtrat wies zwischen wässeriger und ätherischer Schicht im Scheidetrichter Emulsionen auf, die ebenso beim Ausäthern des Bleirückstandes auftraten; sie bilden in kompaktem Zustande braune fetzige, sehr voluminöse Massen, die *Fehlings* Lösung nicht reduzieren, in Alkalien glatt löslich sind und durch Säuren wieder ausfallen. Mit basischen Farbstoffen (Bismarckbraun, Methylenblau, Kongorot), nicht aber mit sauren geben sie grobflockige Fällungen und bilden keine Verunreinigung, sondern einen wesentlichen Bestandteil des Phosphatids; ihre Untersuchung wurde durchgeführt und soll in einer nächsten Abhandlung beschrieben werden. Vorläufig möge der von *Hansteen Cranner* für sie gebrauchte Ausdruck „Pektine" weiter verwendet werden. Die ätherische Rohlösung der Fettsäuren enthält mit der *Lassaigne*schen Probe nachweisbaren N, der sich nur schwer entfernen läßt. Die Fettsäurefraktion bildet quantitativ einen Hauptteil des Phosphatids und ist darin zu 23,5 Proz. enthalten, nachdem es im Vakuum über geglühtem Na_2SO_4 getrocknet ist. Sie ist nunmehr N-frei und enthält gesättigte neben

ungesättigten Fettsäuren. Die Trennung der gesättigten von den ungesättigten geschah auf Grund der verschiedenen Löslichkeit ihrer Bleisalze. 10 g des Fettsäuregemisches wurden mit 60 ccm alkoholischer NaOH am Wasserbad im Erlenmeyerkolben erwärmt, verdünnt und mit Essigsäure genau neutralisiert, nach Verjagen des Alkohols in 100 ccm heißen Wassers gelöst und mit einer neutralen Lösung von 10 g Bleiacetat in 100 ccm 50proz. Alkohols gefällt, die überstehende Flüssigkeit nach dem Erkalten abgegossen und die Bleiseife im Leuchtgasstrom getrocknet. Der Kolbeninhalt wurde dann mit 100 ccm Äther behandelt, die Flüssigkeit mit den Bleisalzen der flüssigen Fettsäuren in einen Scheidetrichter filtriert und zur Zersetzung der Bleisalze mit verdünnter HCl geschüttelt. Die wässerige Schicht wurde abgezogen und die ätherische mit 5proz. NaOH gut durchgeschüttelt. Durch Zusatz von etwas Alkohol wurde eine vollständige Trennung der beiden Schichten erzielt. Die ungesättigten Fettsäuren gehen in die alkalische Lösung über, während das Unverseifbare in der ätherischen Lösung zurückbleibt. Die erstere wurde nun stark verdünnt, mit HCl angesäuert, die Fettsäuren mit Petroläther ausgezogen, säurefrei gewaschen, das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert, worauf ein gelblich gefärbtes Öl zurückblieb, das die Jodzahl 102,6 lieferte; es handelt sich, wie diese relativ hohe Jodzahl zeigt, wahrscheinlich um eine stärker ungesättigte Säure, als es Ölsäure ist, ihre chemische Natur konnte einstweilen nicht bestimmt werden. Die festen Fettsäuren wurden durch Zerlegen der in Äther unlöslichen Bleiseife gewonnen. Der ätherunlösliche Rückstand wurde in 50proz. Alkohol suspendiert und unter Erhitzen K_2CO_3 bis zur deutlich alkalischen Reaktion zugesetzt. Nach Abfiltrieren des Carbonats wurde verdünnt und die Seife unter Anwendung von Methylorange mit HCl zerlegt. Beim Einengen der Lösung und raschen Abkühlen fiel die feste Fettsäure in großen Schuppen aus, die abgesogen und mehrmals aus Alkohol umkristallisiert wurden. Die gelben Schuppen zeigten den *Schmelzpunkt 60,3* und die *Säurezahl 215,9*. Obzwar diese Werte mit Sicherheit auf *Palmitinsäure* schließen ließen, wurde doch auch das Ag-Salz hergestellt, von dem 98,7 mg an Ag 28,61 mg = *28,99 Proz. Ag* lieferten (ber. 29,70). Es handelt sich also bei der festen Fettsäure des Erbsenphosphatids jedenfalls um *Palmitinsäure*. An *unverseifbaren Anteilen waren 3,20 Proz.* vorhanden, es trat weder Liebermann- noch Moleschottreaktion damit ein.

Die schwefelsaure Lösung nach dem Ausäthern der Fettsäuren wurde nach dem Einengen mit Phosphorwolframsäure gefällt, der voluminöse Niederschlag nach Stehen und Waschen mit wässeriger Barytlösung unter Rühren zerlegt, die Barytsalze nach Vertreiben des NH_3 entfernt, der Baryt mit CO_2 beseitigt und das Filtrat mit HCl angesäuert und eingedunstet. Die von dunklen Zersetzungsprodukten

und der überschüssigen HCl befreiten getrockneten Salze wurden mit absolutem Alkohol extrahiert und nach Wiederholung dieses Verfahrens mit alkoholischer $HgCl_2$-Lösung gefällt, der umkristallisierte Niederschlag mit H_2S zerlegt und die Lösung eingedunstet. Ebenso wurde noch ein drittes Mal verfahren. Die Lösung der salzsauren Salze wurde mit $AuCl_3$ gefällt und das erhaltene Au-Doppelsalz aus heißem Wasser umkristallisiert; 0,1004 g Substanz ergaben 45,0 mg Au = *44,82 Proz. Au* (ber. für Cholinchloraurat 44,50 Proz. Au). Die enthaltene *Base war also Cholin*. Das Filtrat von der Fällung mit Phosphorwolframsäure wurde mit $Ba(OH)_2$, dann mit CO_2 behandelt, mit Tierkohle entfärbt, zur Trockne gebracht, mit 98proz. Alkohol digeriert, um noch vorhandene Base in Lösung zu bringen, abfiltriert. Die getrocknete Masse wurde dann in Wasser gelöst, entfärbt und mit Alkohol gefällt, diese Operation wiederholt. Das erhaltene Ba-Glycerophosphat war noch unrein, enthielt N und reduzierenden Zucker, lieferte P-Reaktion und mit $KHSO_4$ erhitzt Acroleingeruch.

Zur Prüfung der Frage, ob in unseren normalen Dialysaten schon *Phytin* auftritt, ob dieses also neben den Phosphatiden vorliegt oder erst durch Spaltung derselben entsteht, wurde die lösliche Fraktion eines auf die gewöhnliche Art gewonnenen Dialysats nach Abfiltrieren der unlöslichen Fraktion durch eine Chamberlandkerze in sodaalkalischer Lösung mit $CaCl_2$ gefällt, wobei eine starke grobflockige Fällung auftrat, die, in HCl gelöst (wobei etwas ungelöst zurückblieb), abfiltriert und mit Natriumacetat übersättigt wurde. Die darauf mit Kupferacetat erhaltene blaugrüne Fällung wurde abgenutscht, mit H_2S zerlegt, mit Tierkohle entfärbt, die klare, im Vakuum über P_2O_5 eingeengte Lösung gab mit Ammonmolybdat keine P-Reaktion, wohl aber Niederschläge mit Uranylacetat und Magnesiamixtur. Sie erfährt durch Stehen am Licht besonders leicht Zersetzung, worauf dann die Molybdatreaktion positiv auftritt. Dieses für Phytin charakteristische Verhalten macht es wahrscheinlich, daß auch im normalen Dialysat aus Erbsen *Phytin* vorliegt. Dabei ist bemerkenswert, daß erstes und zweites Dialysat mit $CaCl_2$ in *neutraler* Lösung keine, dagegen das dritte Dialysat starke grobflockige braune Fällung ergibt, deren überstehende gelbe und klare Lösung von abgespaltenen Fettsäuren eine fettige Oberfläche zeigt. Wir haben beobachtet, daß bei anderen Erbsensorten oder nach längerer Lagerung einer und derselben Sorte sogar schon in den ersten Dialysaten minimale Fällungen mit $CaCl_2$ eintreten, und es scheint also, daß, ebenso wie dies im dritten Dialysat der Fall war, das *Auftreten von Phytin auf einer Zersetzung des primären Phosphatids beruht*, die offenbar in dem genannten Sinne überaus leicht eintritt.

Es wurde ferner versucht, die Bleifällung der löslichen Phosphatidfraktion statt mit H_2SO_4 durch H_2S vom Blei zu befreien. Beim Ein-

dampfen des Filtrats vom PbS resultierte ein rotbrauner schmieriger, widerlich nach „Schwefel" riechender Sirup, der nach der Auflösung in Aceton, die aber schwer erfolgt, mit Äther eine Trübung ergibt. Bei der Bestimmung des P ergab sich dessen Gehalt mit 5,13 Proz., der des N mit 1,58 Proz. Ebenso war S enthalten. Es handelt sich jedenfalls um ein S-haltiges Abbau- oder Zersetzungsprodukt, das noch näher zu untersuchen sein wird.

Phosphatide aus dem Alkoholextrakt von Erbsen.

Mit Rücksicht auf die von uns angenommene wichtige Rolle der Phosphatide aus den verschiedensten Pflanzenorganen im aktiven Stoffwechsel der Zelle war es von Interesse, zu untersuchen, ob dieselben in ruhenden Organen in derselben Zusammensetzung vorlägen wie in keimenden und ob nicht vielleicht solche erst beim Keimen gebildet würden und wenn ja, aus welchen Zellstoffen. Es wurde also eine Extraktion des Materials mit 95 proz. Alkohol am Wasserbad bei 60 bis 70° zweimal durch je 5 Stunden vorgenommen, wodurch also eine durch das organische Lösungsmittel mögliche Zersetzung tunlichst hintangehalten werden mußte, ferner wurden die unzerkleinerten Erbsen verwendet, ebenso wie bei der Dialyse mit Wasser, um ebenso wie dort möglichst wenig andere Zellstoffe austreten zu lassen; eine vorhergehende Extraktion mit Aceton oder Äther erübrigt sich gleichfalls, da bekanntlich der Rohfettgehalt der Erbsen nur etwa 2 Proz. beträgt. Die gelbe schwach getrübte Lösung wurde filtriert und eingedunstet. Der neben Phosphatiden auch Glyceride und Kohlehydrate enthaltende Rückstand wurde abwechselnd mit Äther und Wasser behandelt, eine Arbeitsweise, die, durch die *Schulze*sche Schule[1]) ausgebildet, auch von *Winterstein*[2]) beschrieben wird. Nach dem Klären wurde die wässerige von der Ätherschicht im Scheidetrichter abgezogen; die erstere enthält, wie der positive Ausfall der Phosphorreaktion und eine schwache Fällung mit Bleiacetat zeigte, noch Spuren der Phosphatide, deren Hauptmasse in der ätherischen Schicht vorliegt. Diese wurde wiederholt mit Wasser ausgeschüttelt, wobei die auftretenden Emulsionen leicht durch Zusatz von etwas NaCl und Alkohol vermieden werden können. Nach Filtrieren und Trocknen der Ätherlösung über geschmolzenem Na_2SO_4 wurde der Alkohol verjagt und der erhaltene gelbbraune Rückstand zur Entfernung des Fettes mit Aceton behandelt. Der nunmehr erhaltene Rückstand wurde in einer kleinen Menge Äther gelöst und mit möglichst

[1]) *E. Schulze*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **52**, 54, 1907; **55**, 338, 1908; **60**, 155, 1909.

[2]) *E. Winterstein*, Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden.

viel Aceton, in welchem Lecithin unlöslich ist[1]), der Phosphatidanteil gefällt. Die sich ausscheidenden weißen Flocken setzen sich beim Umrühren alsbald am Boden des Gefäßes ab und bilden eine zusammenhängende plastische Masse, die nochmals durch die genannte Auflösung und Fällung gereinigt wurde.

Der resultierende grauweiße Niederschlag wurde im Kohlensäurestrom, da er unter Verfärbung oxydabel erschien, durch einen Glasgooch filtriert, färbte sich aber trotz aller Vorsicht dabei braun und stellte auch nach Trocknen im Vakuumexsikkator über H_2SO_4 eine braune plastische, stark klebrige Masse dar, die leicht in Alkohol, Äther, Chloroform, unlöslich in Wasser war, ebensowenig in Aceton und Methylacetat. Aus 1 kg Erbsen konnten auf diese Weise 4,6 g Lecithin gewonnen werden. Die Analyse ergab:

67,8 mg	Substanz verbrauchten bei der P-Bestimmung nach *Neumann* 7,82 ccm NaOH (Titer 0,021362), entsprechend 2,313 mg P	= 3,14 Proz. P
84,3 mg	Substanz verbrauchten 8,98 ccm NaOH = 2,656 mg P.	= 3,15 „ P
100,2 mg	Substanz ergaben bei der Kjeldahlbestimmung 1,67 mg N	= 1,66 „ N
118,3 mg	Substanz ergaben bei der Kjeldahlbestimmung 1,94 mg N	= 1,64 „ N

0,613 g Substanz wurden mit H_2SO_4 hydrolysiert, das Filtrat auf 100 ccm gebracht und in je 20 ccm davon, entsprechend 0,1226 g Substanz, die Bestimmung des Zuckers nach *Bertrand* durchgeführt. Sie verbrauchten (Mittel aus zwei Bestimmungen) 0,60 ccm $KMnO_4$-Lösung, von der 1 ccm 9,87 mg Cu entspricht, die obigen 0,60 ccm daher 6,12 mg Cu = 3,00 mg Glucose, entsprechend 2,44 Proz. Glucose (2,57 auf Galaktose berechnet). *Trier*[2]) hatte in Erbsenlecithin 3,62 Proz. P und 1,29 Proz. N gefunden.

Im Mittel hatte also unsere Substanz *3,145 Proz. P, 1,25 Proz. N und 2,44 Proz. Glucose.*

Spaltung mit wässeriger Barytlösung. Das Lecithin wurde in Äther gelöst und, in die kochende Barytlösung einfließen gelassen, 3 bis 4 Stunden weitergekocht. Durch ein Rührwerk wurde für feinste Verteilung und damit für vollständige Zersetzung gesorgt. Die abfiltrierte ge-

[1]) Die oben beschriebene, von früheren Autoren zur Darstellung von Phosphatiden allgemein angewendete Arbeitsmethode liefert, wie in unseren früheren Untersuchungen gezeigt worden ist, veränderte, keinesfalls zellnative Phosphatide; diese können vielmehr nur durch die Methode der Wasserdialyse bei niedriger Temperatur aus den intakten, lebenden Zellen der verschiedensten Organismen und Organe erhalten werden. Im folgenden mögen die mit unserer Arbeitsweise gewonnenen *Phosphatide* allein als *solche schlechtweg*, die *mit organischen Lösungsmitteln extrahierten* aber als *„Lecithine"* bezeichnet werden.

[2]) *G. Trier*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **86**, 1, 407, 1913.

waschene Ba-Verbindung enthielt nach dem positiven Ausfall der N-Probe nach *Lassaigne* etwas N, durch Erwärmen mit überschüssiger H_2SO_4 wurden Fettsäuren in reichlicher Ausbeute erhalten, unter denen Palmitinsäure und Ölsäure nachgewiesen werden konnten und die zunächst gleichfalls noch N enthielten. Alle diese Befunde stimmen vollkommen mit denen von *Trier* (l. c.) an Bohnensamenlecithin gemachten Erfahrungen überein, wie ja überhaupt alle durch Extraktion mit organischen Lösungsmitteln in der Wärme gewonnenen Präparate eine viel größere Übereinstimmung zeigen als die nativen, durch Wasserdialyse erhaltenen. Es scheint, daß durch die früher übliche Arbeitsweise eine Denaturierung des Phosphatids eintritt, so daß nur ein Kerngerüst des Phosphatids von Lecithintypus übrigbleibt. Diese Denaturierung drückt sich dann auch in den veränderten Löslichkeitsverhältnissen aus. Es ist nun sehr wesentlich für die Erkenntnis der chemischen Natur nativer Phosphatide, auch aus den durch Dialyse gewonnenen mit möglichst schonenden Mitteln alle jene akzessorischen Gruppen wie Kohlehydrate, Farbbasen usw. abzuspalten und in Erfahrung zu bringen, ob dann das Phosphatidgerüst auch noch dem früher erkannten Typus angehört. Das Filtrat von der Ba-Verbindung wurde dann nach der von *Hoppe-Seyler* angegebenen Methode weiter aufgearbeitet. Durch Einleiten von CO_2 wurde zunächst das Ba als $BaCO_3$ entfernt, das Filtrat davon zur Trockne abgedunstet und der Rückstand wiederholt mit Alkohol ausgezogen. Der ungelöst bleibende Rückstand von graubrauner Farbe enthält die Glycerinphosphorsäurefraktion. Die alkoholische Lösung wurde eingedunstet und die Masse mit Wasser aufgenommen, wobei ein kleiner Teil ungelöst zurückblieb. Dann wurde H_2SO_4 zugefügt, bis deren Menge 5 Proz. betrug, und die Basen mit konzentrierter Phosphorwolframsäure ausgefällt. Die weiße Fällung wurde nach 24 Stunden abfiltriert und mit 5proz. H_2SO_4 gewaschen.

Der in wenig Wasser verteilte Niederschlag wurde mit festem Baryt zerlegt, das Ammoniak durch Rühren in der Kälte unter Darüberleiten von Luft ausgetrieben, das phosphorwolframsaure Ba durch Filtrieren entfernt, das Filtrat durch CO_2 von überschüssigem Ba befreit. Das klare, aber gelblich gefärbte Filtrat vom $BaCO_3$ wurde mit Tierkohle entfärbt, mit starker HCl angesäuert und die so erhaltene Lösung der Basenchloride eingedunstet. Die geringe Menge des getrockneten Verdampfungsrückstandes wurde mit absolutem Alkohol aufgenommen (etwas $BaCl_2$ blieb ungelöst zurück) und mit alkoholischer Sublimatlösung eine Fällung erhalten, die mit H_2S zerlegt wurde. Die abfiltrierte Lösung der Basenchloride wurde im Vakuum eindunsten gelassen. Die ausgeschiedenen Kristallnadeln gaben, mit gesättigter Alloxanlösung versetzt, die für Cholin charakteristische Farbenreaktion (die rotviolette Lösung wird mit NaOH braun), mikroskopisch wurden

auch die typischen Kristalle des Cholin-Chloroplatinats mit $PtCl_4$ erhalten. Damit ist also als Spaltungsprodukt *Cholin* sichergestellt.

Im Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung sollte der Nachweis versucht werden, ob sich hier ebenfalls Colamin (Aminoäthylalkohol) findet, wie ihn *Trier* (l. c.) bei der Spaltung von Erbsenlecithin nachgewiesen hat. Die Aufarbeitung des Filtrats geschah in der üblichen Weise, es wurde mittels $Ba(OH)_2$ von Phosphorwolframsäure und H_2SO_4 befreit, der überschüssige Baryt mit CO_2 entfernt, die Lösung durch Tierkohle entfärbt und eingedampft. Die über Schwefelsäure getrocknete Masse wurde wiederholt mit 95proz. Alkohol ausgezogen, der verbleibende Rückstand gab P-Reaktion und beim Erhitzen mit $KHSO_4$ Geruch nach Acrolein, als Rest von Glycerinphosphorsäure. Die alkoholische Lösung wurde eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, mit HCl versetzt und wieder eingedunstet. Einigemal mußte von Zersetzungsprodukten abfiltriert werden, die Ähnlichkeit mit denen bei der Phosphatidspaltung erhaltenen hatten. Die im Vakuum getrocknete Masse wurde mit absolutem Alkohol behandelt. Mit Sublimatlösung wurde keine Fällung erhalten, Cholin konnte also nicht anwesend sein. Beim Abdunsten der alkoholischen Lösung wurde so wie bei *Trier* ein nicht kristallisierender Sirup erhalten; erst nach mehrmonatigem Stehen im Exsikkator schieden sich hier Nädelchen aus. Beim Versetzen des mit Wasser aufgenommenen Sirups mit $NaNO_2$ und *Ehrlichs* Reagens (2proz. alkoholische p-Dimethylaminobenzaldehydlösung + verdünnter HCl) trat unter Gasentwicklung intensiv kanariengelbe Färbung auf, die auch beim Erwärmen und bei Zusatz von Ammoniak oder Lauge nicht verschwand. Wenn diese Reaktion auch nicht sehr intensiv auftrat, so war sie doch durchaus deutlich und stellt, da sie für Colamin charakteristisch ist, den Nachweis dieses Aminoalkohols in Erbsenlecithin dar, nachdem er bisher von *Trier* in Bohnen- (Erbsen- und Reis-) Lecithin gefunden worden war. Es ist bemerkenswert, daß in keinem unserer Versuche mit nativen Phosphatiden weder aus Erbsen noch aus einem anderen Ausgangsmaterial dieses Spaltungsprodukt gefunden werden konnte. Es liegt nahe, anzunehmen, daß Colamin hier wie auch in dem anderen Falle, wo es gefunden wurde, ein Spaltungsprodukt des Cholins darstellt, das stets in den nativen Phosphatiden gefunden wird, und ist ein Beweis dafür, wie leicht selbst bei schonender Behandlung durch den Einfluß organischer Lösungsmittel eine Spaltung des Phosphatidkomplexes stattfindet. Die erhaltenen Mengen der Colaminfraktion reichten übrigens zu einem elementaranalytischen Nachweis desselben nicht aus.

Der Rückstand, welcher nach Ausziehen der in Alkohol löslichen Anteile zurückgeblieben war, wurde in Wasser gelöst, durch Tierkohle entfärbt und durch Versetzen mit Alkohol das Ba-Salz der Glycerin-

phosphorsäure ausgefällt. Nach dem Filtrieren und Trocknen wurde die grauweiße Fällung nochmals in derselben Weise gereinigt und gab nach dem Trocknen starke P-Reaktion mit Ammonmolybdat und mit Magnesiamixtur, beim Erhitzen mit $KHSO_4$ den Acroleingeruch aus Glycerin und starke Reduktion von *Fehling* und ammoniakalischer Silberlösung. Das Vorhandensein von Kohlehydraten, wie sie durch diese Reaktionen wahrscheinlich werden, wurde ja schon öfter als mit dem Ba-Salz der Glycerinphosphorsäure vereinigt festgestellt und ist ein Beweis dafür, daß es nur sehr geringer Verschiedenheiten in der Behandlung bei Isolierung der Lecithine oder Phosphatide bedarf, um zu sehr verschiedenen Analysenwerten zu gelangen, was natürlich die chemische Definition dieser Körper erschweren muß; um so wichtiger ist es, daß bei der von uns immer eingehaltenen Arbeitsweise wohl eine Darstellung der Phosphatide vorliegt, die eine solche Veränderung ausschließen dürfte. Der positive Ausfall der *Lassaigne*schen Reaktion in diesem Anteile besagt schließlich, daß N noch von Cholin, das bei der Extraktion in dieser Fraktion zurückgeblieben war, und wohl auch noch von Colamin vorlag. Es waren also als *Spaltungsprodukte Fettsäuren* (*Palmitinsäure*, *Ölsäure*), *Cholin*, *Colamin* und Glycerinphosphorsäure gefunden worden. Außerdem waren noch Kohlehydratgruppen festgestellt worden; die Spaltungsprodukte erwiesen sich also als dieselben wie die aus nativen Phosphatiden, was wohl der schonenden Behandlung der Extraktion unzerkleinerter Erbsen mit Alkohol ohne vorgängige Entfettung und bei niederer Temperatur zuzuschreiben ist. Immerhin trat schon Colamin, wenn auch in kleiner Menge, als Spaltungsprodukt auf und es fehlten die sonst in nativen Phosphatiden niemals fehlende Farbbase und die hochmolekularen, hautähnlichen Kohlehydrate, von denen früher die Rede war und die schon *Hansteen Cranner* beobachtet hatte, der ihnen den Ausdruck „Pektine" aufprägte, ohne daß ihre Zugehörigkeit zu dieser Kohlehydratgruppe versucht worden wäre.

Die mit Alkohol extrahierten, also getöteten Erbsen wurden nunmehr durch 48 Stunden bei 17° gegen Wasser dialysiert. Die austretende Lösung erschien stärker gelb gefärbt, als das früher beobachtet worden war, und auch die unlösliche Fraktion trat in weit höherem Maße auf als bisher bei dieser Temperatur, offenbar als Folge der Denaturierung durch den Alkohol.

Auffallend ist der wesentlich stärkere Austritt des Pigments als rote Lösung, welche sonst im ursprünglichen Dialysat kaum merkbar oder nur als Gelbfärbung erscheint und erst in den Spaltungsprodukten deutlich wird. Auch daraus geht der Erfolg der Extraktion als einer Alkoholyse hervor. Die Aufarbeitung des Dialysats geschah in der üblichen Weise; es wurde nach Filtrieren durch eine Chamberlandkerze

bei 30° eingeengt und mit n/2 Bleiacetatlösung gefällt; es entstand ein sehr starker grobflockiger Niederschlag, welcher ebensowohl wie das frühere Dialysat auf Eiweiß geprüft wurde, da ja aus den getöteten Zellen solches ausgetreten sein konnte. *Millons* Reagens lieferte einen graubraunen Bodensatz, während die überstehende Lösung hellbraun erschien, Biuretreaktion graublaue Fällung, überstehende Lösung blau, *Hellers* Reagens gelbe Lösung, Xanthoproteinreaktion hellgelbe Lösung mit braunem Bodensatz, *Adamkiewicz'* Reaktion violetten Ring auch ohne Glyoxylsäure mit bloßer Schwefelsäure, Pikrinsäure gibt keine Fällung; somit fielen auch die Eiweißreaktionen negativ aus. Die Bleifällung ist grau, *nicht oxydabel* wie die früheren, wie es die Lecithinfraktion des Alkoholextrakts gewesen war, offenbar sind durch die Alkoholextraktion ungesättigte autoxydable Gruppen, etwa Fettsäureradikale, entfernt worden. Sie wurde im Vakuum über H_2SO_4 getrocknet und der Analyse zugeführt.

0,1217 g Substanz ergaben 1,72 g N = 1,41 Proz. N
0,2090 g „ „ 16,34 g P = 7,82 „ P

Das Verhältnis P : N wäre also 1 : 0,4.

Spaltung mit 5proz. H_2SO_4. Mit 5,48 g Trockensubstanz wurde zuerst eine Vorprobe angestellt.

Es wurde mit der zehnfachen Menge der Säure 6 Stunden über freier Flamme am Rückflußkühler gekocht, der ausgeschiedene Niederschlag nach dem Erkalten von der rotbraunen Lösung abfiltriert und zuerst mit Wasser, dann mit Alkohol ausgezogen. Das Ungelöste bestand zum größten Teile aus $PbSO_4$. Die schwefelsaure Lösung wurde mit Äther ausgeschüttelt und der Äther abdestilliert. Der Rückstand wurde mit dem nach Abdestillieren des Alkohols erhaltenen Rückstand vereinigt, in Äther gelöst, die gesamten Ätherlösungen bis zur Säurefreiheit mit Wasser gewaschen, dann über Na_2SO_4 getrocknet und der Äther verdampft. Der im Exsikkator verbliebene Rückstand wog 0,1261 g, was einer Menge von *2,31 Proz. Fettsäuren* entspricht. Beim Ausäthern ergaben sich, wie vorher beschrieben, Emulsionen, die aus braunen Fetzen bestanden, die sich beim Trocknen zu einer zähen, pergamentartigen Haut zusammenlagerten, in Alkalien glatt löslich waren und mit Säuren aus dieser Lösung gefällt werden konnten. Es sind die früher so genannten „Pektine". Die schwefelsaure Lösung reduziert *Fehling* sehr stark, gibt mit Phosphorwolframsäure eine Fällung und, in stark konzentriertem Zustande mit $Ba(OH)_2$ von den Säuren befreit, mit Alkohol eine Fällung, die P enthält und Glycerinreaktion gibt (Glycerinphosphorsäure). Mit HCl gekocht, entsteht starke Rotfärbung, die wesentlich stärker ausfällt als die analoge Färbung in den Bleifällungen der normalen Dialysate, offenbar, wie schon erwähnt, infolge einer Veränderung der Pigmentgruppe durch die vorgängige Alkoholextraktion.

Im Hauptversuch wurden zunächst die Kohlehydrate quantitativ bestimmt. 0,9130 g Substanz wurden 7 Stunden mit 5proz. H_2SO_4 hydrolysiert, das Filtrat auf 100 ccm gebracht, davon je 20 ccm = 0,1826 g Substanz nach *Bertrand* auf Zucker geprüft. Sie verbrauchten

(Mittel aus drei Bestimmungen) 2,456 ccm $KMnO_4$-Lösung, von der 1 ccm 9,87 mg Cu entspricht. Demnach ist der Wert 24,24 mg Cu = 11,88 mg Glucose, entsprechend *6,51 Proz. Glucose* (6,85 Proz. auf Galaktose berechnet). 16,49 g Trockensubstanz der Pb-Verbindung des Phosphatids wurden in der schon wiederholt beschriebenen Weise mit 5proz. Schwefelsäure gespalten, in der Fettsäurefraktion ergaben sich gelbliche Schuppen mit dem Schmelzpunkt 60,5° (für Palmitinsäure 62°). In siedendem Alkohol gelöst und mit alkoholischer $AgNO_3$-Lösung versetzt und langsam kristallisieren gelassen (die Substanz kristallisiert sehr schwer und muß wiederholt umkristallisiert werden, bevor sich kleine Blättchen ausscheiden, die zur Bestimmung des Ag verwendet werden können), in den weißen Blättchen das Ag bestimmt.

0,1172 g Substanz gaben 33,6 mg Ag = *28,67 Proz. Ag* (für palmitinsaures Ag berechnet 29,6 Proz. Ag).

Die Phosphorwolframsäurefällung scheint *mehrere Basen* zu enthalten, sie konnte nicht näher untersucht werden, das Ba-Glycerophosphat war unrein, enthielt N und Kohlehydratgruppen, die *Fehling* reduzierten, es wurde positive P-Reaktion angestellt und in der bekannten Weise Glycerin festgestellt. *Flüssige Fettsäuren waren nicht zugegen.* Normal durch Dialyse gewonnene Phosphatide sind in kaltem und heißem Alkohol vollkommen unlöslich, nach der Extraktion des Erbsenmaterials mit heißem Alkohol tritt aber offenbar eine Änderung in der Zusammensetzung des Phosphatids ein, wodurch dann aus ihm nur der Lecithinkern in den Alkohol geht. Dialysiert man die frischen Erbsen direkt gegen Alkohol, so treten auch nach mehrwöchigem Stehen keine Phosphatide in den Alkohol aus, ebensowenig wie in andere organische Lösungsmittel. Dialysiert man aber das Material zuerst gegen Wasser und behandelt es dann mit Alkohol in der Kälte oder Wärme, so erhält man einen Extrakt, der mit Bleiacetat Niederschläge gibt, die sich analog den Niederschlägen aus den normalen Dialysaten verhalten.

Unlösliche Phosphatidfraktion.

Wie schon erwähnt, bildet sich bei der Dialyse von Pflanzenmaterial der verschiedensten Art eine unlösliche Fraktion bei jeder Temperatur im Laufe der Zeit, um so schneller und in um so höherem Maßstabe, je höher die Dialysentemperatur ist, am besten zwischen 30 bis 35° oder bei kurzem Aufkochen. In diesem Falle entsteht schon nach 15 Minuten eine starke Trübung, die, abgegossen und mit Alkohol nachgewaschen, grobe Flocken darstellte, die sich rasch zu Boden setzten. Diese Trübung ist in der Kälte unter Gelbfärbung in NaOH vollkommen löslich und bildet beim Neutralisieren mit Essigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure unter Entfärbung der Lösung einen weißen Niederschlag.

Bei Zufügung von Alkali löst sich derselbe wieder, wobei die Lösung wieder ihre frühere gelbe Farbe annimmt. Die P-Reaktion ist sehr stark, in der neutralisierten Flüssigkeit entsteht durch $AlCl_3$ ein grauer, durch $FeCl_3$ ein brauner, durch Bleiacetat ein rötlichgelber, durch $CdCl_2$ ein orangegelber Niederschlag. Konzentrierte H_2SO_4 färbt rosa. Die unlösliche Fraktion ist in allen organischen Lösungsmitteln außer in basischen wie Pyridin unlöslich, ebenso leicht wie in basischen organischen Lösungsmitteln löst sie sich in Laugen, aus der Lösung flocken Säuren wieder aus, wobei tiefe Rotfärbung eintritt, alle Eiweißreaktionen verlaufen negativ, basische Farbstoffe geben starke Fällungen, $KMnO_4$ wird entfärbt, beim Spalten mit Säuren tritt die Farbbase tief weinrot in Erscheinung. Die meisten dieser Feststellungen finden wir schon bei der Beschreibung der unlöslichen Fraktion bei *Hansteen Cranner* und seine Angaben nach dieser Richtung können von uns vollkommen bestätigt werden. Mit Phosphorwolframsäure wird eine Basenfraktion erhalten, die Oberfläche bei der Spaltung der Substanz mit Säuren wird fettig, ein Beweis der Abspaltung von Fettsäuren; nach der Spaltung mit Schwefelsäure tritt schwache Reduktion der *Fehling*schen Lösung ein, zum Unterschied von der löslichen enthält die unlösliche Phosphatidfraktion stets Eisen und Schwefel, deren quantitative Bestimmung darin unternommen wurde. Es ist möglich, daß im Dialysat die Entstehung des unlöslichen aus dem löslichen Anteile durch Vermittlung des Eisens etwa katalytisch erfolgt.

Zur *Fe-Bestimmung* wurde die Substanz in der Platinschale mit Sodalösung versetzt und auf dem Wasserbad unter Umrühren soweit als möglich eingedampft, dann im Trockenkasten bei 120° getrocknet, dann bei beginnender Rotglut verkohlt, die Kohle mit heißem Wasser ausgelaugt, filtriert, ausgewaschen, Filter samt Kohle im Platintiegel am Wasserbad eingedampft, im Trockenkasten vollends getrocknet, dann eingeäschert, die Asche mit heißer, verdünnter HCl aufgenommen, eingedampft und dieser Vorgang mehrmals wiederholt. Zuletzt wurde die Asche mit verdünnter HCl aufgenommen, filtriert, ausgewaschen, das Filtrat mit Ammoniak abgestumpft und nach dem Erkalten das Eisen mit Ammonacetat als Phosphat gefällt. Der flockige Niederschlag wurde nach 12 Stunden Stehen filtriert, gewaschen, bei 120° getrocknet, im Tiegel verbrannt und geglüht.

1,4320 g Substanz ergaben 9,737 mg Fe = *0,68 Proz. Fe.*

Zur Bestimmung des S wurde die gepulverte Substanz mit 10 g kalzinierter Soda und 5 g Natriumsuperoxyd gemischt und vorsichtig erwärmt. Die erkaltete Schmelze wurde mit Wasser aufgenommen, die Lösung filtriert, mit bromhaltiger HCl angesäuert und so lange gekocht, bis der Bromgeruch verschwunden war. Die entstandene H_2SO_4 wurde in der Lösung in der gewöhnlichen Weise ausgefällt, filtriert, gewaschen und geglüht.

0,3148 g Substanz ergaben 24,3 mg $BaSO_4$ = 3,337 mg S, entsprechend *1,06 Proz. S.*

Ferner gaben

0,1005 g Substanz	1,367 mg	P = 1,36 Proz.	P	*im Mittel 1,28 Proz. P*
0,0634 g „	0,7608 „	P = 1,20 „	P	
0,0588 g „	3,828 „	N = 6,51 „	N	*im Mittel 6,575 Proz. N*
0,0572 g „	3,798 „	N = 6,64 „	N	

P : N = 1 : 11,75

Diese Analysenwerte machen nicht den Eindruck, als würden sie von einer einheitlichen Substanz stammen, so daß bis auf weiteres die „unlösliche Fraktion" wohl als „Restfraktion" oder als Zersetzungsprodukt aufzufassen sein dürfte. Weitere Untersuchungen nach dieser Richtung sind im Zuge.

Zusammenfassung.

Die Untersuchung erstreckte sich auf die Dialysate von norwegischen Erbsen, aus denen in einer schon in früheren Mitteilungen beschriebenen Weise native Phosphatide gewonnen worden waren. Die Ausfällung derselben (lösliche Fraktion) mit Bleiacetat erfolgte diesmal fraktioniert mit steigenden Bleimengen, wodurch verschiedene Fraktionen mit stufenmäßig wachsendem P : N-Verhältnis erhalten werden konnten.

Besonders deutlich traten in den Phosphatiden aus Erbse die schon in den früher untersuchten Objekten festgestellten Pigmentgruppen und Kohlehydratkomplexe hervor. Die ersteren lassen sich leicht mit hydrolytischen Operationen abspalten und geben wie die Anthocyanine mit Säuren intensive Rotfärbungen. Die Kohlehydratgruppen machen den Eindruck von Polyosen, bilden in trockenem Zustande zähe, pergamentartige Häute, die sich glatt in Alkalien lösen und mit Säuren wieder ausfallen, sie sind es auch, welche bewirken, daß die Phosphatide mit zahlreichen basischen Farbstoffen (nicht aber mit sauren) gut definierbare Niederschläge geben; beim Behandeln mit starken Säuren treten Huminsubstanzen auf.

Die eingehende Prüfung der löslichen Phosphatide in ihrem Verhalten gegen Mineralsalze ergab im allgemeinen, daß Alkalimetalle ihren Austritt aus der Zelle befördern, Erdalkalisalze die Phosphatide in der Zelle festhalten und ihren Austritt in die Dialysenflüssigkeit verhindern. Auch andere Metallionen, namentlich Fe, scheinen diesen verfestigenden Einfluß auszuüben, wenigstens wurde in der „unlöslichen" Fraktion stets Fe gefunden, welches die lösliche niemals enthält. In der erstgenannten wurde auch das Vorhandensein von S festgestellt. Die Bildung des unlöslichen Anteils wird allerdings auch durch andere chemische und physikalische Einflüsse, die als Milieuänderungen wirken, vielleicht kolloidchemisch veranlaßt.

Eine nichtfraktionierte Totalausfällung des Erbsenphosphatids ergab Werte, die auf das Vorhandensein eines Diaminomonophosphatids der alten Nomenklatur schließen lassen. Indessen zeigt die Möglichkeit der Ausfällung verschieden zusammengesetzter Phosphatidkomplexe

durch Fraktionieren, daß diese Bezeichnungsweisen unberechtigt sind, insofern, als sie wohl immer Gemische von Phosphatiden und keine einheitlichen Substanzen betrafen. Ferner wurde in den Dialysaten Phytin aufgefunden, das vielleicht als Denaturierungsprodukt normaler Phosphatide aufgefaßt werden kann.

Wenn unzerkleinerte Erbsen mit Alkohol in der Wärme ausgezogen werden, erhält man ebenso wie durch Wasserdialyse ganzer Erbsen Phosphatide ohne Spur des Austretens von Eiweißstoffen, indessen fehlen in diesen Phosphatiden die akzessorischen Gruppen wie Farbstoff- und Kohlehydratkomponenten, so daß hier gewissermaßen nur der Phosphatidkern bloßgelegt erscheint. Wir schlagen für so gewonnene nichtnative Phosphatide den Ausdruck „Lecithine" und nur für die nativen durch Wasserdialyse in der Kälte gewonnenen Produkte den Namen „Phosphatide" vor. In den ersteren fand sich als Base auch Colamin vor, während im ersteren stets Cholin gefunden wurde. Nach der Extraktion mit Alkohol wurden die Erbsen der gewöhnlichen Wasserdialyse unterworfen, um festzustellen, ob vielleicht die normalen Phosphatide sich erst beim Keimen des Materials bilden, oder ob sie schon in den ruhenden Erbsen festgestellt werden können. Es traten aus den getöteten Erbsen tatsächlich wieder Phosphatide aus, die aber gegenüber den ohne vorhergehende Alkoholyse gewonnenen Unterschiede in der Zusammensetzung zeigten; so wies das P : N-Verhältnis jetzt auf ein Monoaminodiphosphatid, im übrigen aber waren sowohl Pigmentanteile als die obenerwähnten hochmolekularen Kohlehydratgruppen zugegen. Dagegen fehlten die flüssigen Fettsäuren und mit ihnen die leichte Autoxydabilität des Phosphatids.

Schließlich wurden in der unlöslichen Fraktion Fe und S quantitativ bestimmt und ihre Eigenschaften qualitativ geprüft.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 98.

Über den respiratorischen Stoffwechsel des kohlehydratarmen Tieres.

Von

T. Okumura.

[Aus dem Physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern.]

(Eingegangen am 21. Juni 1926.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

In mehreren vorausgehenden Arbeiten des Berner Physiologischen Instituts war eine Methode ausgearbeitet worden, um Tiere praktisch kohlehydratfrei zu machen. Das Gelingen dieser Methode zunächst bei der Ratte gestattete, sie zur Untersuchung einer Reihe von Problemen des allgemeinen und intermediären Stoffwechsels mit heranzuziehen. Sie diente in den Untersuchungen von *Takahashi*[1]), den autonomen Kohlehydratstoffwechsel des Zentralnervensystems in Angriff zu nehmen. Sodann hat *Calvo Criado*[2]) das kohlehydratarme Tier benutzt, um Untersuchungen darüber anzustellen, ob eine Fettzulage Erscheinungen hervorrufen würde, welche im Sinne einer Zuckerbildung aus Fett gedeutet werden könnte. Er kam bei diesem Beitrag zur viel diskutierten Frage der etwaigen Entstehung von Zucker aus Fett auf Grund seiner Versuche zu dem Schluß, daß die Möglichkeit einer solchen Zuckerbildung vorläge. Es ist klar, daß die Verhältnisse bei derartigen Versuchen mit einer neuen Methode angesichts der an und für sich bestehenden Schwierigkeit des Problems nicht einfach liegen. Vor allem fehlt noch als Grundlage eine genauere Kenntnis des Grundumsatzes des kohlehydratarmen Tieres, insofern die Kohlehydratarmut durch die neue Methodik erzeugt worden ist. Es war diese Erwägung, welche mich veranlaßte, auf Anregung von Prof. *Asher* den Stoffwechsel von kohlehydratarmen Tieren zu untersuchen.

[1]) *Takahashi*, diese Zeitschr. **154**, 444, 1924.
[2]) *Calvo Criado*, ebendaselbst **164**, 76, 1925.

Die Hauptaufgabe, die ich zu lösen versuchte, war, den Einfluß der Fettfütterung auf den respiratorischen Stoffwechsel von Ratten, die durch die Methode des Berner Physiologischen Instituts der Erzeugung von Kohlehydratarmut, nämlich die Fütterung mit reinem Fleisch, Eingabe von Thyreoidin und Injektion von Phlorrhizin kohlehydratarm gemacht worden waren, zu untersuchen.

Hierzu habe ich in erster Linie den Grundumsatz der zu meinen Versuchen dienenden normalen Ratten bestimmt. Ich habe darauf gehalten, so lange Vorversuche der Gewöhnung anzustellen, bis die Werte des Grundumsatzes tagelang konstant blieben. Die Bestimmung erfolgte in der bekannten Weise mit der *Asher*schen Modifikation der *Haldane*schen Methode. Die Versuchstiere wurden meist alle 2 Tage einmal, im normalen Zustand sieben- bis neunmal, in den übrigen Perioden vier- bis fünfmal untersucht.

Nach Bestimmung des normalen Grundumsatzes habe ich die Versuchstiere kohlehydratfrei gemacht. Sie erhielten die ersten 6 bis 7 Tage Fleisch, Pepton *Witte* Sic. puris und Schilddrüsentabletten von *Borrough Welcome & Co.*, jede Tablette 0,3 g trockene Schafschilddrüse enthaltend. Die Tagesmenge des Futters war 25 g Fleisch, 3 bis 4 g Pepton und eine Schilddrüsentablette. Das äußerst magere Rindfleisch wurde dadurch möglichst kohlehydratarm gemacht, daß es 15 bis 20 Minuten lang gekocht und mit heißem Wasser gewaschen wurde. Ich habe das Futter zunächst nach den Angaben von *Calvo Criado* im Mörser zusammen gut verrieben. Die Ratten fraßen es aber nicht gern, ließen manchmal etwas vom Futter übrig, offenbar weil die Nahrung eine klebrigweiße Konsistenz und einen ihnen nicht zusagenden Geruch hatte. Sodann habe ich nach der Methode von *Takahashi* die Nahrung mit ganz wenig Brot in Form von Kugeln verabreicht, ohne daß der Erfolg ein wesentlich anderer war. Mit mehr Erfolg habe ich dann das gemischte Pulver von Pepton und Thyreoideatabletten in Pulverform auf die Fleischstücke gegeben. Auf diese Weise wurde das Futter viel besser gefressen. Aber um ganz sicher zu gehen, daß die Tiere durch die Wirkung der Nahrungsstoffe kohlehydratarm gemacht würden, habe ich schließlich 2 g Pepton in Wasser gelöst mit einer Spritze per os eingegeben. Die Tiere wurden außerdem reichlich mit Wasser versorgt. Nach 6 bis 7 Tagen wurde das Pepton fortgelassen und mit gekochtem Fleisch und Thyreoidintabletten weiter gefüttert.

In der darauf folgenden Versuchsreihe wurden die Ratten mit Phlorrhizininjektion weiter behandelt, um die Kohlehydratverarmung der Tiere durch Erzeugung von Phlorrhizindiabetes noch weiter zu steigern. Die Phlorrhizininjektion habe ich nach der Methode von *Coolen* nach den Angaben von *Graham Lusk* gemacht. 0,5 g fein pulverisiertes Phlorrhizin von *Merck* wird in 10 ccm Olivenöl suspendiert

und in einem kleinen Mörser gut verrieben und vermischt, bis das Gemisch gleichmäßig milchigweiß geworden ist. Dieses Gemisch wird im Wasserbad bei 60 bis 65° 2 Stunden lang sterilisiert und dann subkutan injiziert. Als beste Dosis für die weiße Ratte habe ich 0,05 g Phlorrhizin, d. h. 1 ccm obiger Flüssigkeit gefunden und diese Menge alle 2 bis 3 Tage einmal gegeben. Bei dieser Methode fand ich noch am dritten Tage nach einer Injektion von 0,05 g Phlorrhizin eine unvermindert starke Glykosurie. Wenn man gleich zum erstenmal 0,05 g Phlorrhizin injiziert, verträgt es manchmal das Versuchstier nicht und kann zugrunde gehen. Es ist deshalb angezeigt, daß man zum erstenmal nur 0,03 oder 0,04 g einspritzt und allmählich die Dosis steigert. Während der Glykosurie sind die Tiere sehr durstig; es gab Ratten, welche täglich 60 ccm Wasser tranken.

Nach dem Tode der Tiere wurde das Gelingen der Erzeugung der Kohlehydratarmut durch Glykogenbestimmung in Leber und Muskel kontrolliert.

Auf die durch Phlorrhizin erzeugte Zuckerausscheidung wurde die Fettfütterung aufgesetzt, um zu sehen, wie diese Fettfütterung auf den respiratorischen Umsatz einwirkt, und ob sich eine Steigerung der Zuckerausscheidung findet. Zur Fettfütterung benutzte ich frisches Schweinefett. Dasselbe wird zuerst gewogen und in einem Petrischälchen erwärmt und geschmolzen. Dann legt man die gekochten Fleischstückchen in das Fett und pudert auf die mit Fett ganz umhüllten Fleischstücke die gepulverten Thyreoidintabletten. Für eine Ratte von 150 bis 200 g betrug die höchste Tagesmenge von Fett 3 g. Die Ratten befanden sich einzeln in den Stoffwechselkäfigen, wie sie im Berner Physiologischen Institut üblich sind; sie gestatten, Harn und Kot getrennt aufzufangen und die Tiere rein zu halten. Alles Futter wurde jeden Tag nach dem Abwiegen gegeben, und am nächsten Morgen wurden die nicht gefressenen Reste zurückgewogen.

Der Harn wurde täglich quantitativ aufgefangen und zuerst qualitativ mit der *Nylander*schen Reaktion auf Zucker geprüft, und dann quantitativ mit der *Bertrand*schen Methode der Prozentgehalt bestimmt und die gesamte in 24 Stunden ausgeschiedene Zuckermenge berechnet. Auf Eiweiß wurde stets mit Sulfosalicylsäure geprüft, aber selbst mit dieser schärfsten Methode erwies sich der Eiweißgehalt des Harns so gering, daß eine Enteiweißung nicht erforderlich war.

Insgesamt sind meine Versuche an 12 Ratten angestellt worden. Ratte 1 starb nach der dritten Peptonfütterung an Schwäche, Ratte 2 ist nach der ersten Phlorrhizininjektion von 0,05 g gestorben, Ratte 4 nach der zweiten Phlorrhizininjektion. Die Ratte 3 habe ich nach dem zweiten Versuch mit Fettfütterung unter Erscheinungen eines leicht krampfartigen Zustands verloren. Es ist dies das einzige Tier, wo Andeutungen eines hypoglykämischen Symptomenkomplexes zur Beobachtung gelangten. Bei allen

übrigen Tieren ließ sich die Gesamtheit der beabsichtigten Beobachtungen durchführen.

Die Ratten 11 und 12 dienten als Kontrolltiere, indem sie nur mit Thyreoideatabletten, Fleisch und Fett gefüttert wurden, mit Weglassung der Pepton- und Phlorrhizinzufuhr. Auf diese Weise erhielt ich unter meinen Versuchsbedingungen die schon so oft untersuchten Wirkungen der Schilddrüse auf den Stoffwechsel mit besonderer Beachtung der gleichzeitigen Fleisch- und Fettzufuhr. Diese Kontrolltiere sind also im Gegensatz zu den eigentlichen Versuchstieren jedenfalls kohlehydratreicher, und ich habe dies auch durch die Analyse bestätigt gefunden.

Bei Ratte 7 und 10 wurde außer der oben genannten Ernährungsweise noch jeden Tag oder jeden zweiten Tag der Nahrung 0,1 g Rohrzucker beigegeben. Dies geschah aus dem Grunde, weil in der Arbeit von *Calvo Criado* gefunden wurde, daß die Anzeichen für Bildung von Zucker aus Fett deutlicher wurden, wenn der Nahrung eine kleine Menge von Kohlehydrat zugefügt wurde, und er führte dies darauf zurück, daß die kleine Menge von Zucker den funktionellen Zustand der Leber gegenüber dem vollständig kohlehydratfreien Zustand bessere, so daß ihre Zucker bildende Funktion unter den obwaltenden Versuchsbedingungen eher zutage treten konnte. In meinen Versuchen habe ich, wie ich gleich hier bemerken will, keinen merklichen Einfluß des Zuckerzusatzes in geringfügigen Mengen beobachten können.

Die Ratten 5 und 9 erhielten 2 g Natrium carbonicum in Wasser gelöst mit der Schlundsonde in zweimaliger Eingabe. Dies geschah, um die Acidose zu bekämpfen. Zur Kontrolle der vorausgehenden Versuche wurden die Ratten 7, 8, 9 und 10 vom 30. Dezember bis 3. Januar 5 Tage lang nur mit gekochtem Fleisch, ohne Thyreodeatabletten, gefüttert.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen habe ich in ausführlichen Tabellen mit allen Einzelheiten der Versuche und zur besseren Übersicht in Kurvenform dargestellt. Da die Kurven in anschaulichster Weise die Tatbestände wiedergeben, möchte ich dieselben der Erörterung meiner Ergebnisse zugrunde legen, während ich für die Details auf die am Schluß meiner Arbeit zusammengestellten Versuchsprotokolle hinweise.

Abb. 1, die Versuchsreihen von Ratte 5 darstellend, gibt ein vollständiges Bild der Stoffwechselverhältnisse in sämtlichen Versuchsphasen, die zur Anwendung kommen sollten. Die Kurven enthalten eine Wiedergabe der Kohlensäureausscheidung, des Sauerstoffverbrauchs und der Kalorienbildung pro Kilogramm Gewicht und pro Stunde sowie den respiratorischen Quotienten (das hier Gesagte gilt für alle übrigen Kurven). Nachdem der normale Grundumsatz auf einer sehr tiefen Stufe konstant geworden ist, setzt die Fütterung mit Pepton, Fleisch und Schilddrüsentabletten ein. Die prozentische Steigerung des Gaswechsels beträgt zwischen 35 und 38 Proz., diejenige der Kalorienbildung 35,9 Proz. In der nachfolgenden mehrtägigen Versuchsperiode wird noch die Phlorrhizininjektion hinzugefügt, und dies bewirkt ein weiteres erhebliches Ansteigen des Stoffwechsels, denn die prozentischen Steigerungen betragen 68, 71 und 72 Proz. In diesem kohlehydratfreien Zustand ist demnach der Stoffwechsel ein außerordentlich gesteigerter.

Der respiratorische Quotient ist in den drei Versuchsreihen annähernd der gleiche, ein solcher, wie er bei einem überwiegenden Abbau von Eiweiß und Fett anzutreffen ist. In der nächsten Hauptperiode findet der Zusatz von Fett statt. Der Erfolg dieses Zusatzes ist ein ganz erhebliches

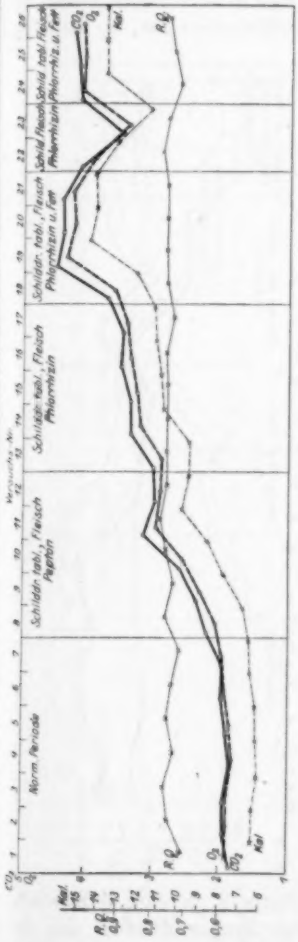


Abb. 1.

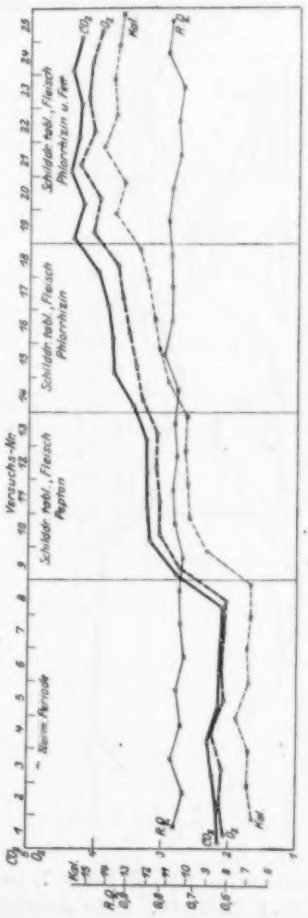


Abb. 2.

weiteres Anwachsen der Stoffwechselprozesse, indem die prozentischen Steigerungen über den Grundumsatz 121,9, 116,9 und 118,3 Proz. betragen. Um zu entscheiden, ob diese Steigerung wirklich auf dem Zusatz des Fettes beruhe oder auf einem allmählichen Anwachsen der Wirkung der Schilddrüse, wurde in der nächsten Versuchsperiode das

Fett weggelassen, und wir sehen sofort wieder ein Absinken des Stoffwechsels. Die prozentischen Steigerungen betragen jetzt nur noch 99,9, 94 und 94,4 Proz. Hierauf wird wieder Fett zugesetzt und wiederum schnellt der Umsatz annähernd auf die gleiche Höhe wie vorher zurück. Ich bemerke gleich hier, daß in allen meinen Versuchsreihen der Zusatz des Fettes denselben Stoffwechsel hat, so in Abb. 2

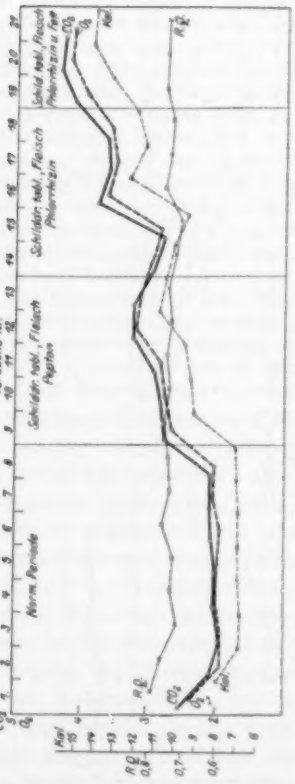


Abb. 3.

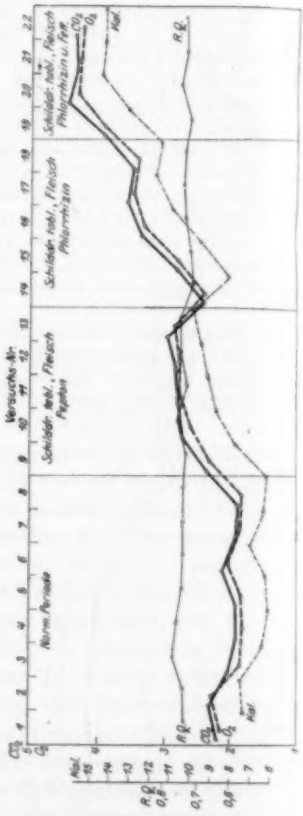


Abb. 4.

Ratte 6, in Abb. 3 Ratte 7, in Abb. 4 Ratte 8, in Abb. 5 Ratte 9, in Abb. 6 Ratte 10. Sehr deutlich geht das Emporschnellen des Stoffwechsels durch Fettzusatz aus Abb. 4 Ratte 8 (Tabelle IV, Anhang) hervor, wo in der Periode mit Fleisch und Schilddrüsentablettenfütterung und Phlorrhizinfütterung die Steigerungen über den Grundumsatz 54,2, 56,6, 56,2 Proz. betrugen, bei Fettzusatz aber 109,3, 112 und 110 Proz. Eine noch etwas größere Steigerung als in dem Versuch

den Abb. 1 darstellt, zeigt in Abb. 5 Ratte 9 (Tabelle V, Anhang), wo unter Fettzusatz die prozentischen Erhöhungen gegenüber dem Grundumsatz 125,2, 128,5, 131,4 Proz. betragen. Der respiratorische Quotient bleibt in allen diesen Versuchen gleich.

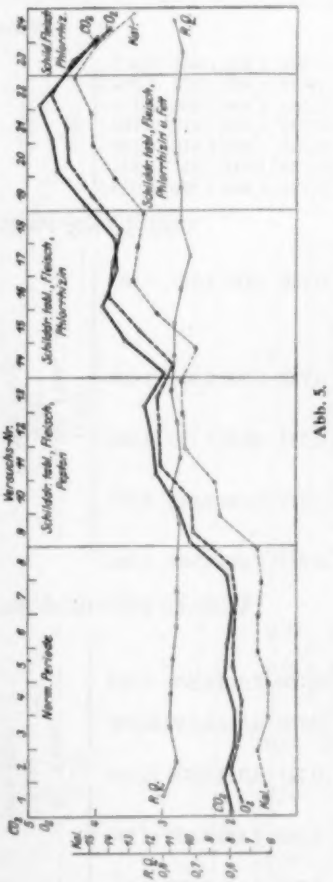


Abb. 5.

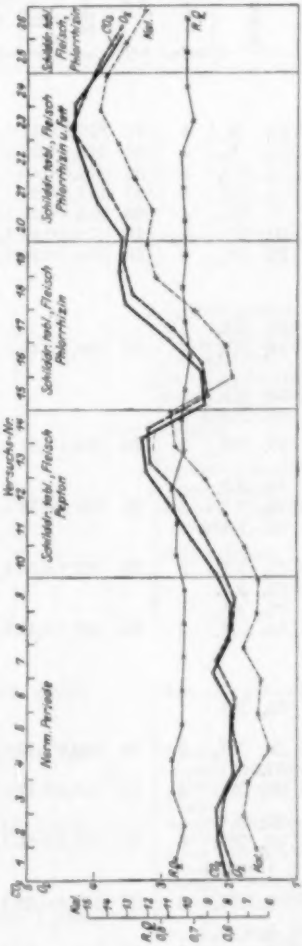


Abb. 6.

Das Absinken des Stoffwechsels nach bloßer Weglassung des Fettes unter Fortsetzung des sonstigen Nahrungsregimes und Andauer der Phlorrhizininjektion habe ich in jedem Wiederholungsfalle beobachten können, so in Abb. 5 Ratte 9, Abb. 6 Ratte 10.

Tabelle

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2-Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunden	O_2 pro kg und Stunden	Kalorien pro kg und Stunden	R. Q. Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	CO_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	O_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	K g
															Norm
1	29. X.	4	26	218,5	0,47	1,58	1,62	0,708	1,819	1,865	6,352				
2	31. X.	4	26	215,8	0,36	1,67	1,62	0,749	1,935	1,877	6,344				
3	3. XI.	4	26	214,6	0,40	1,66	1,55	0,760	1,934	1,806	6,116				
4	5. XI.	3	27	211,5	0,29	1,15	1,14	0,733	1,828	1,812	6,103				
5	7. XI.	4	26	215,8	0,46	1,63	1,57	0,754	1,888	1,819	6,148	0,737	1,898	1,865	
6	10. XI.	3	26	219,8	0,42	1,28	1,26	0,738	1,941	1,911	6,447				
7	12. XI.	4	26	218,7	0,30	1,70	1,72	0,718	1,944	1,966	6,619				
															Versuche mit Pepton, Fle
	13. XI.														
8	14. XI.	3	26	208,9	0,49	1,32	1,27	0,755	2,107	2,027	6,863				
	15. XI.														
	16. XI.														
9	17. XI.	3	26	194,4	0,51	1,34	1,33	0,732	2,303	2,286	7,693				
	18. XI.														
10	19. XI.	3	26	189,5	0,58	1,49	1,44	0,752	2,628	2,540	8,585	0,752 + 2,0 Proz.	2,627 + 38,4 Proz.	2,533 + 35,8 Proz.	
	20. XI.														
11	21. XI.	3	25	187,9	0,53	1,76	1,66	0,772	3,129	2,945	9,993				
	22. XI.														
	23. XI.														
12	24. XI.	3	26	169,7	0,42	1,51	1,46	0,751	2,966	2,868	9,694				
															Versuche mit Fleisch, Schilddr
	25. XI.														
13	26. XI.	3	26	160,9	0,39	1,44	1,38	0,758	2,983	2,859	9,682				
	27. XI.														
14	28. XI.	3	26	157,8	0,47	1,57	1,51	0,756	3,316	3,189	10,780				
	29. XI.														
15	30. XI.	3	27	156,0	0,54	1,55	1,50	0,751	3,312	3,205	10,835	0,753 + 2,2 Proz.	3,211 + 68,4 Proz.	3,191 + 71,1 Proz.	
	1. XII.														
16	2. XII.	3	26	152,3	0,59	1,59	1,52	0,760	3,480	3,327	11,289				
	3. XII.														
17	4. XII.	3	25	155,0	0,43	1,60	1,59	0,740	3,441	3,377	11,391				

Futter	Pepton	Fleisch	Schilddrüsentabl.	Fett	Phlorrhizininjektion
Dauer	6 Tage	45 Tage	45 Tage	18 Tage	13 mal
Totalmenge	21 g	1210 g	41 Tabletten	54 g	0,54 g
Glykogengehalt (mg pro g Gewebe)	Leber 0,0597		Muskel 0,0885		

Tabelle 5 ♂.

Futter						Phlorrhizin-injektion	Harn				Bemerkungen
								Zucker			
Pepton *Witte* Sic.	Schilddrüsentabletten	Schweinefett	Rohrzucker	Natrium carbon.		Menge in 24 Stunden	Proz.	Totalmenge in 24 Stdn.	Eiweiß	
g		g	g	g	g	ccm		g		
										Normalumsatz.
4	1					12	(—)		(—)	½ nicht gefressen
										Pepton, Fleisch, Schilddrüsentabletten.
4	1					15				½ nicht gefressen
3	1					10	(—)		(—)	10 g nicht gefressen, Harn grünlich, Gallenfarbstoff (+)
3	1					—				5 g nicht gefressen
2	1					16				Pepton m. Schlundsonde eingegossen
2	1					11	(—)		(—)	Dasselbe
3	1					13				5 g nicht gefressen
—	1					—				Alles gefressen
—	1					17				Dasselbe, Appetit gesteigert
—	1					12				Alles gefressen
—	1					10				" "
—	1					14				" "
—	1				0,04	13	(—)		(—)	" "
										Schilddrüsentabletten und Phlorrhizininjektion.
—	1				0,05	17	5,254	0,8932		Fast alles gefressen
—	1				0,05	23				" " "
—	1					27	6,329	1,7088		Durstig
—	1					24				Appetit nicht gut, 6 g nicht gefressen
—	1				0,05	25				Durstig
—	1					30	6,512	1,9536	(—)	Appetit gesteigert, alles gefressen
—	1				0,04	—				Etwas unruhig, alles gefressen
—	1			2		36				Dasselbe, Natr. carbon. im Wasser gegeben
—	1				0,04	32	3,750	1,2000	(—)	
—	1	3		1						Natrium carbon. i. Futter gegeben, tobsüchtig, Appetit nicht gut

Tabelle

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2-Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien
									pro kg und Stunden			Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz			
Versuche mit Fleisch, Schilddrüse															
	5. XII.														
	6. XII.														
18	7. XII.	3	26	154,6	0,51	1,70	1,64	0,753	3,687	3,558	12,126	0,755 + 2,4 Proz.	4,212 + 121,9 Proz.	4,046 + 116,9 Proz.	13,723 + 113,3 Proz.
	8. XII.														
19	9. XII.	3	26	147,8	0,54	1,97	1,89	0,757	4,467	4,286	14,513				
	10. XII.														
20	11. XII.	3	26	143,3	0,46	1,85	1,78	0,755	4,312	4,149	14,056				
	12. XII.														
	13. XII.														
21	14. XII.	3	26	136,0	0,49	1,78	1,71	0,756	4,363	4,191	14,195				
Versuche mit Schilddrüsentabletten, Fleisch															
	15. XII.														
22	16. XII.	3	26	140,9	0,44	1,72	1,62	0,771	4,095	3,857	13,088	0,761 + 3,3 Proz.	3,795 + 99,9 Proz.	3,618 + 94,0 Proz.	12,255 + 94,4 Proz.
	17. XII.														
23	18. XII.	3	25	145,7	0,48	1,52	1,47	0,751	3,494	3,379	11,423				
Versuche mit Fleisch, Schilddrüse															
	19. XII.														
	20. XII.														
24	21. XII.	3	26	149,9	0,57	1,82	1,82	0,726	4,071	4,071	13,702	0,740 + 0,4 Proz.	4,131 + 117,6 Proz.	4,054 + 117,4 Proz.	13,677 + 116,9 Proz.
	22. XII.														
25	23. XII.	3	26	147,4	0,49	1,82	1,78	0,743	4,127	4,036	13,618				
	24. XII.														
	25. XII.														
26	26. XII.	3	25	143,3	0,55	1,80	1,74	0,751	4,196	4,056	13,710				

Futter	Pepton	Fleisch	Schilddrüsentabl.	Fett	Phlorrhizininjektion
Dauer	6 Tage	45 Tage	45 Tage	18 Tage	13 mal
Totalmenge	21 g	1210 g	41 Tabletten	54 g	0,54 g
Glykogengehalt (mg pro g Gewebe) .	Leber 0,0597		Muskel 0,0885		

Tabelle (Fortsetzung).

Futter							Harn				
Gekochtes Rindfleisch g	Pepton *Witte* Sic. g	Schilddrüsentabletten	Schweinefett g	Rohrzucker g	Natrium carbon. g	Phlorrhizininjektion g	Menge in 24 Stunden ccm	Zucker Proz.	Zucker Totalmenge in 24 Stdn. g	Eiweiß	Bemerkungen
Tabletten, Phlorrhizininjektion und Fett.											
25	—	1	3				23				Appetit nicht gut, 1/3 nicht gefressen
25	—	—	3			0,03	—				Appetit nicht gut, 7 g nicht gefressen
25	—	1	3				43	3,929	1,6895		Appetit nicht gut
25	—	—	3				30	6,873	2,0619	(—)	„ „ „
25	—	1	3			0,05	25				„ „ „
25	—	—	3				46	8,917	4,0018		„ „ „
25	—	1	3			0,03	40				
25	—	1	3				41	9,329	3,8249		Geschwächt, abgemagert
25	—	1	3			0,04	32				Geschwächt, 8 g nicht gefressen
25	—	1	—				34	4,233	1,4392		Wegen großer Schwäche Fett weggelassen
und Phlorrhizininjektion (ohne Fett).											
25	—	1	—			0,03	19				5 g nicht gefressen
25	—	1	—				34	7,450	2,5330		Appetit etwas gesteigert, alles gefressen
30	—	1	—				15				Appetit gut, alles gefressen
30	—	1	—				26	3,106	0,8756		Appetit gut, alles gefressen
Tabletten, Phlorrhizin und Fett.											
25	—	1	3			0,05	23				
25	—	1	3				29	8,109	2,3516		4 g nicht gefressen
25	—	—	3			0,04	39				Appetit nicht gut
25	—	1	3				34	6,155	2,0927		3 g nicht gefressen
25	—	1	3				23				Alles gefressen
25	—	1	3			0,05	25				„ „
25	—	1	3				32	7,682	2,0927		9 g nicht gefressen
25	—	—	3				29				5 g „ „

\+ bedeutet Zunahme (+) zeigt positiv
— „ Abnahme (—) „ negativ

Tabelle I

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2-Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien
									pro kg und Stunde			Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz			
Normal															
1	31. X.	4	26	160,9	0,62	1,37	1,31	0,760	2,141	2,047	6,932	0,749	2,165	2,103	7,104
2	3. XI.	3	26	158,2	0,53	1,02	1,01	0,735	2,152	2,131	7,175				
3	5. XI.	3	26	151,4	0,47	1,01	0,95	0,772	2,230	2,097	7,116				
4	7. XI.	3	26	151,8	0,51	1,05	1,03	0,741	2,318	2,279	7,671				
5	10. XI.	4	27	151,3	0,43	1,30	1,25	0,756	2,153	2,069	7,009				
6	12. XI.	4	25	155,0	0,46	1,32	1,31	0,732	2,129	2,113	7,115				
7	14. XI.	4	26	152,8	0,52	1,28	1,25	0,744	2,105	2,056	6,937				
8	17. XI.	3	26	154,2	0,39	0,97	0,94	0,749	2,100	2,035	6,878				
Versuche mit Fleisch, Pepto															
	18. XI.														
9	19. XI.	3	26	136,6	0,43	1,14	1,12	0,739	2,794	2,745	9,262				
	20. XI.														
10	21. XI.	3	26	130,7	0,50	1,24	1,18	0,763	3,180	3,026	10,014				
	22. XI.														
	23. XI.														
11	24. XI.	3	26	129,2	0,51	1,24	1,17	0,770	3,204	3,024	10,257	0,758	3,125	2,992	10,078
	25. XI.											+ 1,2 Proz.	+ 44,3 Proz.	+ 42,3 Proz.	+ 43,2 Proz.
12	26. XI.	3	27	132,0	0,49	1,28	1,23	0,756	3,218	3,092	10,452				
	27. XI.														
13	28. XI.	3	26	129,0	0,53	1,25	1,19	0,763	3,230	3,075	10,414				
Versuche mit Fleisch, Schilddrüs															
	29. XI.														
14	30. XI.	3	26	126,9	0,39	1,30	1,25	0,755	3,439	3,307	11,179				
	1. XII.														
15	2. XII.	3	26	124,3	0,49	1,38	1,26	0,796	3,710	3,387	11,554				
	3. XII.														
16	4. XII.	3	27	123,0	0,40	1,44	1,35	0,775	3,728	3,494	11,855	0,775	3,735	3,452	11,865
	5. XII.											+ 3,5 Proz.	+ 68,9 Proz.	+ 64,1 Proz.	+ 65,0 Proz.
	6. XII.														
17	7. XII.	3	26	122,4	0,53	1,40	1,31	0,776	3,825	3,579	12,154				
	8. XII.														
18	9. XII.	3	25	120,3	0,51	1,44	1,34	0,780	3,972	3,694	12,589				

Futter	Pepton	Fleisch	Schilddrüsentabl.	Fett	Phlorrhizininjektion
Dauer	6 Tage	39 Tage	38 Tage	18 Tage	12 mal
Totalmenge	16 g	995 g	38 Tabletten	58 g	0,54 g
Glykogengehalt (mg pro g Gewebe) .	Leber 0,0787		Muskel 0,0976		

Tabelle I *Katze 6 ♂.*

		Futter						Phlorrhizin-injektion	Harn				Bemerkungen
		Rindfleisch	Pepton *Witte* Sic.	Schilddrüsen-tabletten	Schweinefett	Rohrzucker	Natrium carbon.		Menge in 24 Stunden	Zucker: Proz.	Zucker: Totalmenge in 24 Stdn.	Eiweiß	
		g	g		g	g	g	g	ccm		g		
Normal													
	2,103												
	7,104												
		20	3	1					10		(—)	(—)	1/2 nicht gefressen
h, Pepto		nd Schilddrüsentabletten.											
		20	3	1					9				1/2 nicht gefressen
		20	2	1					11				Peptonlösg. m. Schlundsonde eingegossen
		20	3	1					12				5,5 g nicht gefressen
		20	2	1					11				Pepton per os eingeg.
		20	3	1									3 g nicht gefressen
		20	—	1					21		(—)	(—)	Fast alles gefressen
									2 Tage				
		20	—	1					9				Alles gefressen, Appetit gut
		25	—	1					10				Alles gefressen, Appetit gesteigert
		30	—	1					10				Fast alles gefressen
		30	—	1					8				Alles gefressen
2,992		30	—	1				0,03	12				" "
+ 42,3 Proz.													
	10,078												
ilddrüs		bletten und Phlorrhizininjektion.											
		30	—	1				—	15	Spur	—	(—)	Alles gefressen
		30	—	1				0,04	27	—	—		" "
		30	—	1				—	20	1,812	0,3624		Dasselbe, durstig
		30	—	1				0,05	18	—	—		" "
		30	—	1				—	29	3,752	1,0881		3 g nicht gefressen
		30	—	—				—	28	—	—		Fast alles gefressen, etwas tobsüchtig
		30	—	1				0,05	19	—	—		Dasselbe
		30	—	—				—	30	4,108	1,2324	Spur	5 g nicht gefressen
		30	—	1				—	31	—	—		Dasselbe, etwas tobsüchtig
		30	—	—				—	28	4,068	1,1390		4 g nicht gefressen
		30	—	1	3			0,05	25	—	—		1/2 " "
3,462													
+ 64,1 Proz.													
	11,856												

\+ bedeutet Zunahme (+) zeigt positiv
— " Abnahme (—) " negativ

Tabelle I

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2-Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	CO_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	O_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	Kalorien Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz
	Versuche mit Fleisch, Schilddrüse														
	10. XII.														
19	11. XII.	3	26	119,0	0,45	1,55	1,44	0,782	4,342	4,033	13,711	0,768 + 2,5 Proz.	4,268 + 97,1 Proz.	4,051 + 92,6 Proz.	13,692 + 92,7 Proz.
	12. XII.														
	13. XII.														
20	14. XII.	3	26	119,2	0,57	1,49	1,40	0,773	4,174	3,922	13,307				
	15. XII.														
21	16. XII.	3	26	120,0	0,49	1,58	1,53	0,750	4,389	4,250	14,367				
	17. XII.														
22	18. XII.	3	26	122,3	0,63	1,54	1,47	0,761	4,208	4,016	13,605				
	19. XII.														
	20. XII.														
23	21. XII.	3	26	120,6	0,69	1,51	1,48	0,741	4,194	4,111	13,870				
	22. XII.														
24	23. XII.	3	26	118,9	0,42	1,54	1,42	0,788	4,351	4,096	13,610				
	24. XII.														
	25. XII.														
	26. XII.														
	27. XII.														
25	28. XII.	3	26	117,7	0,51	1,48	1,38	0,779	4,216	3,932	13,374				

Futter	Pepton	Fleisch	Schilddrüsentabl.	Fett	Phlorrhizininjektion
Dauer	6 Tage	39 Tage	38 Tage	18 Tage	12 mal
Totalmenge	16 g	995 g	38 Tabletten	58 g	0,54 g
Glykogengehalt (mg pro g Gewebe)	Leber 0,0787		Muskel 0,0976		

Tabelle III.

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2-Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	CO_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	O_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	Kalorien Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz
	Normaler														
1	27. XI.	4	26	178,2	0,23	1,80	1,67	0,783	2,528	2,346	7,974				
2	1. XII.	3	27	179,3	0,27	1,11	1,07	0,754	2,067	1,993	6,736				
3	3. XII.	3	26	176,5	0,21	1,03	1,05	0,713	1,951	1,989	6,664				
4	5. XII.	4	26	179,9	0,32	1,45	1,44	0,731	2,025	2,011	6,773				
5	8. XII.	3	27	181,5	0,19	1,09	1,09	0,726	2,007	2,007	6,760				
6	10. XII.	4	27	185,6	0,39	1,54	1,47	0,761	2,081	1,987	6,728				
7	12. XII.	4	27	192,6	0,50	1,61	1,59	0,737	2,096	2,071	6,985				
8	15. XII.	3	25	181,0	0,26	1,14	1,12	0,739	2,099	2,063	6,959				

0,743	2,107	2,092	6,947

(Fortsetzung).

Futter							Harn				Bemerkungen
Gekochtes Rindfleisch g	Pepton *Witte* Sic. g	Schilddrüsentabletten	Schweinefett g	Rohrzucker g	Natrium carbon. g	Phlorrhizininjektion g	Menge in 24 Stunden ccm	Zucker Proz.	Zucker Totalmenge in 24 Stdn. g	Eiweiß	
tabletten, Phlorrhizininjektion und Fett.											
25	—	1	3			—	39	6,432	2,5085	(—)	Nicht gut gefressen
25	—	1	3			0,05	27	—	—		„ „ „
25	—	1	3			—	40	9,021	3,6084		9 g nicht gut gefressen
25	—	1	3			0,04	23	—	—		6,5 g nicht gefressen
25	—	1	3			—	32	8,103	2,5930	(—)	Fast alles gefressen
25	—	1	—			—	19	—	—		„ „ „
25	—	1	3			—	24	—	—		„ „ „
25	—	1	3			0,05	29	10,031	2,9090	(—)	„ „ „
25	—	—	3			—	33	—	—		„ „ „
25	—	1	3			0,04	41	6,105	2,5630	(—)	„ „ „
25	—	1	3			—	25	—	—		„ „ „
25	—	1	3			—	32	4,258	1,3626	(—)	„ „ „
25	—	1	3			0,05	37	—	—		„ „ „
25	—	1	3			—	34	—	—		Alles gefressen
25	—	1	3			0,04	42	7,916	3,3247	(—)	„ „
25	—	1	3			—	31	—	—		9 g nicht gefressen
25	—	1	3			—	35	8,268	2,8938		5 g „ „
25	—	1	3			0,05	29	—	—		11 g nicht gefressen, abgeschwächt
25	—	1	3			—	32	8,527	2,7286	(—)	8 g nicht gefressen
25	—	1	—			—					

+ bedeutet Zunahme
— „ Abnahme

(+) zeigt positiv
(—) „ negativ

Ratte 7 ♂.

Futter							Harn				Bemerkungen
Gekochtes Rindfleisch g	Pepton *Witte* Sic. g	Schilddrüsentabletten	Schweinefett g	Rohrzucker g	Natrium carbon. g	Phlorrhizininjektion g	Menge in 24 Stunden ccm	Zucker Proz.	Zucker Totalmenge in 24 Stdn. g	Eiweiß	
Grundumsatz.											
25	3	1		0,1			11	(—)		(—)	Etwa 1/3 nicht gefressen

Tabelle III

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2-Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien
									pro kg und Stunden			Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz			
Versuche mit Fleisch, Pepton															
	16. XII.														
9	17. XII.	3	27	168,6	0,41	1,40	1,34	0,759	2,778	2,659	9,005	0,746 + 0,4 Proz.	2,986 + 41,7 Proz.	2,910 + 30,1 Proz.	9,827 + 41,5 Proz.
	18. XII.														
10	19. XII.	3	27	157,8	0,37	1,42	1,39	0,742	2,817	2,758	9,305				
	20. XII.														
	21. XII.														
11	22. XII.	3	26	152,3	0,28	1,37	1,33	0,748	2,909	2,824	9,545				
	23. XII.														
	24. XII.														
	25. XII.														
12	26. XII.	3	27	146,4	0,33	1,46	1,45	0,731	3,208	3,186	10,728				
	27. XII.														
	28. XII.														
13	29. XII.	3	26	142,0	0,29	1,37	1,33	0,748	3,216	3,122	10,554				
Versuche mit Fleisch, Schilddrüsen															
	3. I.														
	4. I.														
14	5. I.	3	27	146,9	0,31	1,31	1,31	0,726	2,971	2,971	10,000				
	6. I.														
15	7. I.	3	26	143,2	0,41	1,20	1,22	0,709	2,770	2,840	9,513				
16	8. I.	3	27	139,7	0,32	1,60	1,53	0,759	3,818	3,651	12,364	0,736 — 0,9 Proz.	3,362 + 54,8 Proz.	3,316 + 51,1 Proz.	11,161 + 67,1 Proz.
	9. I.														
	10. I.														
	11. I.														
17	12. I.	3	27	136,8	0,29	1,48	1,44	0,747	3,606	3,509	11,861				
	13. I.														
18	14. I.	3	27	134,2	0,37	1,46	1,44	0,737	3,626	3,577	12,067				
Versuche mit Fleisch, Schilddrüsen															
	15. I.														
19	16. I.	3	27	131,6	0,28	1,63	1,56	0,759	4,129	3,957	13,382				
	17. I.														
20	18. I.	3	26	135,5	0,33	1,77	1,71	0,752	4,371	4,222	14,273				
	19. I.														
21	20. I.	3	27	133,2	0,41	1,73	1,67	0,752	4,336	4,185	14,149	0,754 + 1,5 Proz.	4,279 + 103,1 Proz.	4,121 + 97,0 Proz.	13,935 + 100,6 Proz.
	21. I.														

Futter	Pepton	Fleisch	Schilddrüsentabl.	Fett
Dauer	7 Tage	37 Tage	37 Tage	7 Tage
Totalmenge	21 g	910 g	32 Tabletten	21 g
Glykogengehalt (mg pro g Gewebe)	Leber 0,0970		Muskel 0,0994	Rohrzucker 37 Tage, 2,1 g

Phlorrhizininjektion: 9 mal, 0,36 g

belle III (Fortsetzung).

Futter							Phlorrhizin-injektion	Harn				Bemerkungen
								Menge in 24 Stunden	Zucker		Eiweiß	
Gekochtes Rindfleisch	Pepton *Witte* Sic.	Schilddrüsentabletten	Schweinefett	Rohrzucker	Natrium carbon.				Proz.	Totalmenge in 24 Stdn.		
g	g		g	g	g	g		ccm		g		
Pepton								und Schilddrüsentabletten.				
25	3	1		0,1								5 g nicht gefressen
25	3	1		0,1				13				Fast alles gefressen
25	3	1		0,1								3,5 g nicht gefressen
25	3	1		—								4 g „ „
25	3	1		—				12	(—)		(—)	Harn stark grünlich
25	3	1		—								Alles gefressen
25	—	1		0,1								„ „
25	—	1		0,1				9				Appetit gesteigert
25	—	1		—								Alles gefressen
25	—	1		—								Dasselbe, polyphagisch
30	—	1		0,1				15	(—)		(—)	Alles gefressen
30	—	1		0,1								„ „
30	—	1		0,1								4 g nicht gefressen
25	—	1		—				13				Alles gefressen
ddrüsen								tabletten und Phlorrhizininjektion.				
25		1		0,1			0,03	19				30. XII. bis 3. I. nur mit Fleisch und Wasser gefüttert
25		1		—				—	0,1801		(—)	
25		1		0,1			0,04	22				3,5 g nicht gefressen
25		1		—				19	2,3812	0,4524		9 g „ „
25		1		0,1			0,05	14				Alles gefressen
25		1		0,1				24	3,291	0,7898		„ „
25		1		—			0,05	33				4 g nicht gefressen
25		1		0,1				29	5,058	1,4668		Durstig
25		1		0,1			0,04	28	8,915	2,4962		Alles gefressen
25		1		—				20	8,646	1,7292		Dasselbe, unruhig
25		1		—			0,05	40	12,536	5,0144		Nach Phlorrhizininjekt. ganz entkräftet
25		1	3	0,1				45	4,666	2,0997		Appetit nicht gut
drüsen								tabletten, Phlorrhizininjektion und Fett.				
20		1	3	0,1			0,03	37	7,606	2,8142		9 g nicht gefressen
20		1	3	0,1				27	9,146	2,5694		5,5 g „ „
20		1	3	—			0,03	22	13,036	2,8679		8,5 g „ „
20		1	3	0,1				17	9,716	1,6517		13 g nicht gefress., entkräftet u. abgemagert
20		1	3	0,1			0,04	13	7,258	0,9435		14 g abgenommen
20		1	3	0,1				18	6,779	1,2261		Abgeschwächt
21												Am Abend gestorben

+ 39,1 Proz. 9,827 + 41,5 Proz.

+ 51,1 Proz. 11,161 + 67,1 Proz.

13,035 + 100,6 Proz.

ktion

+ bedeutet Zunahme — „ Abnahme

(+) zeigt positiv (—) „ negativ

Tabelle 1

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2 Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien
									pro kg und Stunde			Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz			
Normale															
1	27. XI.	4	26	198,4	0,30	1,74	1,71	0,739	2,197	2,159	7,287	0,749	2,042	1,981	6,995
2	1. XII.	4	26	194,7	0,27	1,78	1,75	0,739	2,294	2,255	7,627				
3	3. XII.	4	26	190,9	0,32	1,52	1,44	0,772	2,017	1,895	6,429				
4	5. XII.	3	25	187,9	0,29	1,07	1,02	0,762	1,907	1,818	6,158				
5	8. XII.	4	26	186,0	0,28	1,43	1,39	0,747	1,922	1,868	6,315				
6	10. XII.	4	26	192,8	0,34	1,66	1,62	0,744	2,162	2,110	7,117				
7	12. XII.	3	27	186,6	0,26	1,08	1,05	0,747	1,935	1,881	6,360				
8	15. XII.	4	26	187,0	0,33	1,43	1,39	0,744	1,903	1,859	6,270				
Versuche mit Pepton, Fleisch															
	16. XII.														
9	17. XII.	3	26	187,2	0,32	1,32	1,30	0,738	2,353	2,318	7,818				
	18. XII.														
10	19. XII.	3	26	182,5	0,36	1,50	1,43	0,762	2,748	2,619	8,868				
	20. XII.														
	21. XII.														
11	22. XII.	3	26	181,3	0,40	1,52	1,50	0,736	2,799	2,762	9,320	0,749	2,746	2,660	9,046
	23. XII.											+ 34,5 Proz.	+ 34,3 Proz.	+ 34,3 Proz.	+ 29,3 Proz.
	24. XII.														
	25. XII.														
12	26. XII.	3	25	173,6	0,28	1,48	1,43	0,752	2,852	2,755	9,531				
	27. XII.														
	28. XII.														
13	29. XII.	3	26	170,9	0,26	1,52	1,46	0,756	2,980	2,863	9,693				
Versuche mit Fleisch, Schilddrüse															
	4. I.														
	5. I.														
14	6. I.	3	27	161,2	0,32	1,17	1,18	0,720	2,422	2,443	8,211				
	7. I.														
	8. I.														
15	9. I.	2	27	146,1	0,22	1,26	1,26	0,726	2,844	2,844	9,578	0,745	3,149	3,102	10,460
	10. I.											− 0,5 Proz.	+ 54,2 Proz.	+ 56,6 Proz.	+ 50,9 Proz.
16	11. I.	3	26	141,7	0,27	1,44	1,41	0,742	3,387	3,317	11,191				
	12. I.														
17	13. I.	3	27	125,0	0,29	1,35	1,31	0,749	3,599	3,492	11,805				
	14. I.														
18	15. I.	3	26	126,2	0,26	1,32	1,29	0,743	3,492	3,413	11,514				

Tabelle I ...tte 8 ♂.

Futter						Phlorrhizin-injektion	Harn				Bemerkungen
								Zucker			
Pepton *Witte* Sic.	Schilddrüsentabletten	Schweinefett	Rohrzucker	Natriumcarbon.		Menge in 24 Stunden	Proz.	Totalmenge in 24 Stdn.	Eiweiß	
g		g	g	g	g	ccm		g		

Tabelle I

Versuche mit Fleisch, Schilddrüse

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2-Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	CO_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	O_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	Kalorien Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz
	16. I.														
	17. I.														
19	18. I.	3	27	127,4	0,29	1,50	1,50	0,726	3,925	3,925	13,217	0,741 − 1,2 Proz.	4,273 + 109,3 Proz.	4,210 + 112,5 Proz.	14,127
	19. I.														
20	20. I.	3	27	125,3	0,26	1,68	1,62	0,753	4,468	4,310	14,568				
	21. I.														
21	22. I.	3	26	125,0	0,27	1,59	1,56	0,740	4,339	4,257	14,362				
	23. I.														
	24. I.														
22	25. I.	3	27	122,4	0,23	1,60	1,56	0,745	4,357	4,249	14,361				

Futter	Pepton	Fleisch	Schilddrüsentabl.	Fett	Phlorrhizininjektion
Dauer	6 Tage	42 Tage	42 Tage	10 Tage	9 mal
Totalmenge	18 g	1000 g	37 Tabletten	30 g	0,41 g

Glykogengehalt (mg pro g Gewebe): Leber 0,0683 — Muskel 0,0514

Tabelle II

Normal

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2-Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	CO_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	O_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz	Kalorien Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz
1	27. XI.	4	27	179,8	0,24	1,42	1,30	0,793	1,983	1,816	6,192				
2	1. XII.	3	26	180,3	0,22	1,11	1,08	0,754	2,056	1,981	6,683				
3	3. XII.	3	27	168,8	0,19	0,97	0,91	0,774	1,925	1,848	6,127				
4	5. XII.	4	27	171,8	0,27	1,32	1,24	0,773	1,930	1,813	6,151				
5	8. XII.	3	27	175,3	0,25	1,08	1,02	0,768	2,057	1,943	6,592				
6	10. XII.	4	26	185,5	0,35	1,49	1,43	0,757	2,014	1,932	6,545	0,765	1,996	1,900	6,419
7	12. XII.	4	26	187,5	0,29	1,47	1,42	0,750	1,965	1,898	6,417				
8	15. XII.	3	27	195,8	0,23	1,19	1,15	0,752	2,034	1,966	6,645				

abelle I ortsetzung).

Futter						Phlorrhizin-injektion	Harn				Bemerkungen
Rindfleisch	Pepton *Witte* Sic.	Schilddrüsentabletten	Schweinefett	Rohrzucker	Natrium carbon.		Menge in 24 Stunden	Zucker: Proz.	Zucker: Totalmenge in 24 Stdn.	Eiweiß	
g	g		g	g	g	g	ccm		g		
ilddrüs		letten, Phlorrhizininjektion und Fett.									
		1	3			0,04	45	4,717	2,1213		2 g nicht gefressen
		1	3				38	9,913	3,7679		3 g „ „
		1	3			0,04	42	8,276	3,4759		Alles gefressen
		1	3				22	8,947	1,9684		8,5 g nicht gefressen
		1	3			0,04	29	12,194	3,5363		9 g nicht gefressen, geschwächt
		1	3				24	4,572	1,0973		12 g nicht gefressen
		1	3				13	—	—		8 g nicht gefressen, stark abgemagert.
		1	3			0,05	20	7,239	1,4478		7 g nicht gefressen
		1	3				27	5,043	1,3616		5 g „ „
		1	3				—	—			Am 26. I. gestorben

4,210
+ 112,5 Proz.
14,127

+ bedeutet Zunahme (+) zeigt positiv
— „ Abnahme (—) „ negativ

Tabel atte 9 ♂.

Futter						Phlorrhizin-injektion	Harn				Bemerkungen
Rindfleisch	Pepton *Witte* Sic.	Schilddrüsentabletten	Schweinefett	Rohrzucker	Natrium carbon.		Menge in 24 Stunden	Zucker: Proz.	Zucker: Totalmenge in 24 Stdn.	Eiweiß	
g	g		g	g	g	g	ccm		g		
Norma		undumsatz.									

Tabelle V

Versuchs-Nr.	Datum 1928/1929	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Menge g	Totale CO_2-Menge g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien
									pro kg und Stunde			Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz			
												Versuche mit Fleisch, Pepto			
	16. XII.														
9	17. XII.	3	26	186,5	0,39	1,44	1,40	0,747	2,581	2,509	8,481	0,758			
	18. XII.											— 0,9 Proz.			
10	19. XII.	3	27	182,0	0,28	1,50	1,41	0,773	2,747	2,582	8,763		2,966		
	20. XII.												+ 48,3 Proz.		
	21. XII.														
11	22. XII.	3	26	174,8	0,34	1,61	1,57	0,745	3,084	3,008	10,148		2,841		
	23. XII.												+ 49,5 Proz.		
	24. XII.														
	25. XII.														
12	26. XII.	3	26	176,0	0,42	1,66	1,60	0,754	3,144	3,030	10,244		9,613		
	27. XII.												+ 49,8 Proz.		
	28. XII.														
13	29. XII.	3	27	167,2	0,26	1,64	1,54	0,773	3,274	3,074	10,430				
	30. XII.														
												Versuche mit Fleisch, Schilddrüsen			
	4. I.														
	5. I.														
14	6. I.	3	27	169,5	0,33	1,53	1,46	0,762	2,979	2,852	9,558				
	7. I.														
	8. I.														
15	9. I.	3	27	164,6	0,37	1,73	1,65	0,747	3,506	3,343	11,324				
	10. I.														
16	11. I.	3	26	157,4	0,41	1,84	1,79	0,747	3,897	3,791	12,814	0,757			
	12. I.											— 1,0 Proz.			
													3,557		
17	13. I.	3	27	130,6	0,38	1,44	1,46	0,716	3,692	3,743	12,585		+ 77,8 Proz.		
	14. I.														
18	15. I.	3	27	131,3	0,36	1,46	1,42	0,747	3,709	3,607	12,193		3,467		
													+ 82,5 Proz.		
													11,695		
													+ 82,2 Proz.		
												Versuche mit Fleisch, Schilddrüsen			
	16. I.														
	17. I.														
19	18. I.	3	27	139,4	0,38	1,73	1,69	0,744	4,149	4,053	13,674				
	19. I.														
20	20. I.	3	26	146,4	0,43	2,00	1,93	0,753	4,566	4,407	14,896	0,755			
	21. I.											— 1,3 Proz.			
													4,505		
21	22. I.	3	26	149,3	0,40	2,08	1,98	0,765	4,655	4,421	14,972		+ 125,2 Proz.		
	23. I.														
	24. I.														
													4,342		
													+ 128,5 Proz.		
													14,856		
													+ 131,4 Proz.		
22	25. I.	2	27	150,9	0,78	2,20	2,11	0,757	4,856	4,689	15,880				

Fortsetzung).

Futter							Harn				Bemerkungen
Gekochtes Rindfleisch	Pepton *Witte* Sic.	Schilddrüsentabletten	Schweinefett	Rohrzucker	Natrium carbon.	Phlorrhizininjektion	Menge in 24 Stunden	Zucker: Proz.	Zucker: Totalmenge in 24 Stdn.	Eiweiß	
g	g		g	g	g	g	ccm		g		
nd Schilddrüsentabletten.											
25	3	1									4 g nicht gefressen
25	3	1					15				7 g " "
25	2	1					13	(—)		(—)	Pepton m. Schlundsonde eingegoss.; Harn etwas grünlich. Gallenfarbstoffprobe positiv
25	3	1					12				
25	3	1					11				Alles gefressen
25	3	1									3 g nicht gefressen
25	—	1					13				Alles gefressen
25	—	1					11				" "
25	—	1									" "
25	—	1									" "
25	—	1					14	(—)		(—)	Alles gefressen. Appetit gesteigert
25	—	1					16				Alles gefressen
25	—	1					10				" "
25	—	1					12				" "
											30. XII. bis 3. I. mit Fleisch und Wasser gefüttert
abletten und Phlorrhizininjektion.											
30		1					17	(—)		(—)	Futter ganz gefressen
30		1				0,03	14				" " "
30		1					15	1,122	0,1683		" " "
30		1				0,05	12				" " "
30		1					15	4,615	0,7323		7,5 g nicht gefressen
30		1				0,04	10				10 g " "
30		1					31	6,492	2,0125		Alles gefressen
30		1				0,05	27	7,814	2,1198		" "
30		1					44	5,737	2,5243		7 g nicht gefressen, durstig über 40 ccm Wasser getrunken
25		1				0,04	28	8,544	2,3923		Alles gefressen
30		1					25	8,059	2,0138	(+)	3 g nicht gefressen
30		1				0,05	42	2,491	1,0462	(+)	Alles gefressen
abletten, Phlorrhizininjektion und Fett.											
25		1	3				31	4,068	1,2611	(—)	Alles gefressen, durstig
25		1	3			0,05	54	4,486	2,4224	(—)	" " "
25		1	3				38	9,648	3,6662		Alles gefressen, etwas unruhig
25		1	3		2	0,03	47	5,404	2,5399		Tobsücht., Natr. carbon. im Wasser gegeben
25		1	3				32	6,973	2,2313		6 g nicht gefressen
25		1	3		2	0,04	22	3,356	0,7383		Alles gefress., etwas geschwächt, nicht mehr so durstig
25		1	3				14	8,697	1,2176	(—)	Alles gefressen
25		1	3			0,05	25	3,871	0,9677		" "
25		1	3				49	7,987	3,9136		Alles gefressen, etwas durstig
25		1	—			0,04	31	5,232	1,6219		Alles gefressen

Tabelle V

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2-Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien
									pro kg und Stunde			Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz			
												Versuche mit Fleisch, Schilddrüsentabletten			
	28. I.	3	27												
23	27. I.	3	27	154,4	0,39	2,06	2,02	0,741	4,447	4,361	14,713	0,754	4,218	4,067	13,759
	31. I.											− 1,4 Proz.	+ 110,9 Proz.	+ 114,1 Proz.	+ 114,4 Proz.
24	1. II.	3	27	142,0	0,41	1,66	1,57	0,768	3,990	3,774	12,806				

Futter . . . . . Pepton Fleisch Schilddrüsentabl. Fett Phlorrhizininjektion
Dauer . . . . . 7 Tage 49 Tage 49 Tage 9 Tage 12 mal
Totalmenge . . . . . 20 g 1280 g 44 Stück 27 g 0,52 g
Glykogengehalt (mg pro g Gewebe): Leber 0,0716, Muskel 0,0832

Tabelle VI.

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	Totale H_2O-Bildung g	Totale CO_2-Bildung g	Totaler O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorie	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien
									pro kg und Stunde			Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz			
												Normaler			
1	26. XI.	4	26	208,6	0,23	1,72	1,62	0,754	2,020	1,947	6,582				
2	28. XI.	3	27	206,3	0,25	1,33	1,32	0,732	2,152	2,136	7,192				
3	30. XI.	4	27	208,2	0,30	1,82	1,73	0,764	2,187	2,078	7,042				
4	2. XII.	4	26	207,8	0,24	1,58	1,49	0,770	1,908	1,800	6,106				
5	4. XII.	4	27	209,5	0,27	1,66	1,63	0,740	1,986	1,950	6,578				
6	7. XII.	4	27	217,8	0,31	1,69	1,65	0,744	1,947	1,901	6,414	0,744	2,044	1,993	6,728
7	9. XII.	4	27	215,2	0,43	1,92	1,90	0,736	2,233	2,204	7,437				
8	11. XII.	3	26	223,5	0,19	1,34	1,32	0,737	2,003	1,973	6,657				
9	14. XII.	4	26	225,6	0,33	1,76	1,75	0,731	1,956	1,945	6,548				
												Versuche mit Pepton, Fleisch			
	15. XII.														
10	16. XII.	3	27	223,5	0,31	1,50	1,44	0,757	2,242	2,153	7,290				
	17. XII.														
11	18. XII.	3	27	204,6	0,23	1,59	1,49	0,757	2,598	2,435	8,246				
	19. XII.														
	20. XII.														
12	21. XII.	3	26	200,8	0,19	1,74	1,63	0,775	2,900	2,717	9,218				
	22. XII.														
13	23. XII.	3	27	195,0	0,27	1,91	1,87	0,742	3,265	3,197	10,810				
	24. XII.														
	25. XII.														
	26. XII.														
	27. XII.														
14	28. XII.	3	26	188,7	0,22	1,86	1,81	0,747	3,298	3,209	10,845				

0,756 + 1,6 Proz. | 2,859 + 39,9 Proz. | 2,742 + 37,6 Proz. | 9,282 + 38,0 Proz.

(Fortsetzung).

Futter							Phlorrhizin-injektion	Harn				Bemerkungen
Gekochtes Rindfleisch	Pepton *Witte* Sic.	Schilddrüsentabletten	Schweinefett	Rohrzucker	Natrium carbon.		Menge in 24 Stunden	Zucker: Proz.	Zucker: Totalmenge in 24 Stdn.	Eiweiß	
g	g		g	g	g	g	ccm		g		
und Phlorrhizininjektion (wieder ohne Fett).											
25		1	—				35	6,139	2,1486		Alles gefressen
25		1	—				—				
25		1	—			0,05	21	—			27. bis 30. I. nur Fleisch und Thyreoidintabl. gegeben
25		1	—				29	5,723	1,6597		

\+ bedeutet Zunahme (+) zeigt positiv
— „ Abnahme (−) „ negativ

Ratte 10 ♂.

Futter							Phlorrhizin-injektion	Harn				Bemerkungen
Gekocht. Rindfl.	Pepton *Witte* Sic.	Schilddrüsentabletten	Schweinefett	Rohrzucker	Natrium carbon.		Menge in 24 Stdn.	Zucker: Proz.	Zucker: Totalmenge in 24 Stdn.	Eiweiß	
g	g		g	g	g	g	ccm		g		
Grundumsatz.											
25	4	1		0,1			11	(—)		(—)	Mit *Nylanders* u. Sulfosalicylsäurelösung geprüft
und Schilddrüsentabletten.											
25	4	1		0,1			10				Appetit nicht gut.
25	3	1		0,1							1/3 nicht gefressen
25	2	1		—							5,5 g „ „
25	3	1		0,1			17				Pepton m. Schlundsonde eingegossen
											Harn deutlich grünlich und Gallenfarbstoffprobe positiv
25	2	1		—							Pepton wieder per os eingegossen
25	3	1		0,1							4,5 g nicht gefressen
25	—	1		—							Fast alles gefressen
25	—	1		0,1			15	(—)		(—)	„ „ „
25	—	1		—							„ „ „
25	—	1		0,1			18				„ „ „
25	—	1		—							
25	—	1		0,1			16				
25	—	1		—							
25	—	1		0,1			15	(—)		(—)	29. XII. bis 3. I. nur mit Fleisch gefüttert

Tabelle V

Versuchs-Nr.	Datum 1925/1926	Versuchsdauer	Temperatur im Kasten	Körpergewicht	Totale H_2O-Bildung	Totale CO_2-Bildung	Totaler O_2-Verbrauch	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien
		Stdn.	° C	g	g	g	g		pro kg und Stunde			Mittelwert und prozentuale Steigerung gegenüber dem Grundumsatz			
	Versuche mit Fleisch, Schilddrüse														
	3. I.														
	4. I.														
15	5. I.	3	27	185,6	0,18	1,32	1,30	0,738	2,371	2,335	7,877				
	6. I.														
16	7. I.	3	27	173,7	0,25	1,26	1,27	0,721	2,418	2,437	8,192				
17	8. I.	3	27	172,5	0,26	1,51	1,49	0,736	2,926	2,888	9,743				
	9. I.											0,735	2,987	2,951	9,945
	10. I.											— 1,2 Proz.	+ 46,1 Proz.	+ 48,1 Proz.	+ 47,8 Proz.
	11. I.														
18	12. I.	3	27	167,3	0,29	1,79	1,75	0,743	3,567	3,487	11,764				
	13. I.														
19	14. I.	3	27	153,3	0,44	1,68	1,66	0,735	3,653	3,610	12,167				
	Versuche mit Fleisch, Schilddrüse														
	15. I.														
20	16. I.	3	27	151,2	0,45	1,68	1,65	0,740	3,608	3,544	11,958				
	17. I.														
21	18. I.	3	26	152,3	0,39	1,77	1,73	0,743	3,882	3,794	12,801				
	19. I.														
22	20. I.	3	26	163,9	0,34	2,04	1,99	0,745	4,146	4,045	13,647				
	21. I.											0,739	4,046	3,999	12,951
23	22. I.	2	27	151,6	0,20	1,31	1,33	0,715	4,328	4,394	14,769	— 0,7 Proz.	+ 97,9 Proz.	+ 100,6 Proz.	
	23. I.														
	24. I.														
24	25. I.	3	27	154,2	0,49	1,97	1,95	0,734	4,264	4,221	14,214				
	Versuche mit Fleisch, Schilddrüsentablet														
25	26. I.	3	27	164,4	0,37	1,96	1,94	0,734	3,973	3,933	13,246				
	27. I.											0,733	3,821	3,731	
26	1. II.	3	27	148,8	0,21	1,63	1,62	0,731	3,651	3,629	12,221	— 1,5 Proz.	+ 96,9 Proz.	+ 87,2 Proz.	

Futter	Pepton	Fleisch	Schilddrüsentabl.	Fett	Phlorrhizininjektion
Dauer	7 Tage	50 Tage	50 Tage	11 Tage	12 mal
Totalmenge	21 g	1200 g	41 Tabletten	33 g	0,53 g
Glykogengehalt (mg pro g Gewebe)	Leber 0,0963		Muskel 0,1335	Rohrzucker 2,5 g für 50 Tage	

abelle V (Fortsetzung).

O_2	Kalo-rien	Futter: Rindfleisch g	Pepton *Witte* Sie. g	Schilddrüsentabletten g	Schweinefett g	Rohrzucker g	Natrium carbon. g	Phlorrhizin-injektion g	Harn: Menge in 24 Stunden ccm	Zucker: Proz.	Zucker: Totalmenge in 24 Stdn. g	Eiweiß	Bemerkungen
od prozen-ung gegen-undumsatz		g	g	g	g	g	g	g	ccm				
ilddrüse				bletten und Phlorrhizininjektion.									
		25		1		0,1		0,03					Appetit gut
		25		1		0,1			13	0,9027	0,1174		
		25		1		—		0,04	12				8 g nicht gefressen
		25		1		0,1			10	5,329	0,5329		10 g " "
		25		1		—		0,05	15				4 g " "
2,951		25		1		0,1			23	4,753	1,0392		Appetit gut, alles gefressen
+ 48,1 Proz.		25		1		0,1			30				Alles gefressen
9,945		20		1		—		0,05	42	4,027	1,6913		Etwas durstig, alles gefressen
+ 47,8 Proz.		20		—		—			45	5,928	2,6632		5 g nicht gefressen
		25		1		0,1			56	3,159	2,0533		Alles gefressen
		25		—		—		0,05	26	—	—		Alles gefressen, polyphagisch und etwas unruhig
		20		1	3	0,1			35	3,269	1,1465		
ilddrüse				bletten, Phlorrhizininjektion und Fett.									
		20		1	3	0,1		0,04	55	2,913	1,6022		Alles gefressen
		20		—	3	—			19	8,290	1,5751		" "
		20		1	3	0,1		0,05	43	5,718	2,4587		" "
		20		1	3	—			47	2,988	1,4044		" "
3,999		20		1	3	0,1		0,04	29	4,957	1,4375		" "
+ 100,6 Proz.		20		1	3	—			27	2,180	0,5886		12 g nicht gefressen
12,951		20		1	3	0,1		0,05	18	2,136	0,3845		4 g " "
		20		1	3	0,1			15	9,714	1,4571		Alles gefressen
		20		1	3	0,1		0,04	23	4,926	1,1330		" "
		20		1	3	0,1			22	2,204	0,4849		" "
		20		1	—	0,1		0,05	—	1,646	—		" "
tablet				Phlorrhizininjektion (ohne Fett).									
		25		1		0,1			35	7,981	2,7933		Alles gefressen
3,731		25		1		0,1		0,04					28. I. bis 1. II. nur Fleisch und Thyreoidintabletten gegeben
+ 87,2 Proz.		25		1									
12,736													

\+ bedeutet Zunahme (+) zeigt positiv
— " Abnahme (—) " negativ

Tabelle VII. Ratte 11 ♂ (Kontrollratte 1).

Datum	Versuchsdauer	Temperatur im Kasten	Körpergewicht	H_2O-Bildung	CO_2-Bildung	O_2-Verbrauch	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	Bemerkungen
								pro kg und Stunde			Mittelwert und prozentuale Steigerung				
1926	Stdn.	°C	g	g	g	g									
Normaler Grundumsatz.															
8. II.	3	27	228,0	0,59	1,44	1,38	0,758	2,101	2,018	6,832	0,750	1,906	1,844	6,234	Mit Brot und Milch gefüttert, nüchtern 16 Stunden vor jedem Versuch verabreicht
10. II.	3	27	225,2	0,60	1,32	1,29	0,743	1,930	1,886	6,363					
12. II.	3,5	27	226,8	0,63	1,52	1,48	0,746	1,915	1,865	6,303					
16. II.	3	28	236,0	0,30	1,29	1,27	0,736	1,810	1,786	6,024					
18. II.	3	27	226,2	0,51	1,17	1,12	0,759	1,804	1,727	5,848					
20. II.	3	27	225,5	0,58	1,26	1,23	0,759	1,873	1,781	6,033					
Fleisch und Thyreoidin.															
22. II.	3	27	225,3	0,77	1,87	1,84	0,738	2,771	2,726	9,197	0,756 + 0,8 Proz.	3,424 + 79,6 Proz.	3,314 + 79,7 Proz.	11,199 + 78,4 Proz.	Seit 20. II. abends mit 30 g gekochtem Rindfleisch und 1/2 bis 1 Thyreoid ntablette gefüttert
24. II.	3	26	210,0	0,56	2,02	2,05	0,716	3,207	3,254	10,937					
26. II.	3	26	209,3	0,73	2,08	2,03	0,744	3,317	3,238	10,924					
2. III.	3	25	206,4	0,63	2,32	2,18	0,768	3,753	3,526	11,963					
4. III.	3	25	199,5	0,59	2,22	2,08	0,775	3,719	3,484	11,822					
6. III.	3	26	187,0	0,54	2,12	2,05	0,751	3,779	3,654	12,352					
Fleisch, Thyreoidin und Fett.															
9. III.	3	26	189,2	0,46	2,25	2,17	0,753	3,969	3,827	12,937	0,756 + 0,8 Proz.	3,991 + 109,4 Proz.	3,834 + 107,9 Proz.	12,955 + 107,7 Proz.	Seit 6. III. abends jeden Tag 25 g gekochtes Fleisch, 1 Thyreoidintablette und 3 g Fett gegeben
11. III.	3	26	190,6	0,51	2,20	2,14	0,747	3,860	3,755	12,600					
13. III.	3	25	185,4	0,39	2,21	2,16	0,743	3,982	3,892	13,130					
16. III.	3	26	187,0	0,49	2,29	2,18	0,763	4,082	3,886	13,162					
18. III.	3	24	182,7	0,53	2,23	2,08	0,779	4,085	3,810	12,951					
20. III.	3	26	174,5	0,43	2,07	2,00	0,752	3,966	3,831	12,950					
Fleisch und Thyreoidin.															
23. III.	3	25	180,6	0,51	1,89	1,81	0,758	3,500	3,352	11,350	0,764 + 1,9 Proz.	3,379 + 77,3 Proz.	3,211 + 74,1 Proz.	10,880 + 74,5 Proz.	Seit 20. III. wieder mit 30 g Fleisch und 1 Thyreoidintablette (ohne Fett) gefüttert
25. III.	3	24	176,8	0,47	1,72	1,62	0,771	3,258	3,069	10,411					

Datum 1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung l	O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und prozentuale Steigerung	CO_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung	O_2 Mittelwert und prozentuale Steigerung	Kalorien Mittelwert und prozentuale Steigerung	Bemerkungen
Normaler Grundumsatz.															
8. II.	3	27	227,3	0,46	1,43	1,41	0,737	2,100	2,071	6,986	0,740	1,914	1,881	6,496	Futter: Brot und Milch. Nüchtern, 16 Stunden vor jedem Versuch
10. II.	3	27	228,0	0,39	1,36	1,32	0,750	1,989	1,925	6,507					
12. II.	3,5	27	225,9	0,38	1,45	1,46	0,722	1,834	1,847	6,206					
16. II.	3	28	215,6	0,33	1,21	1,21	0,726	1,871	1,871	6,300					
18. II.	3	27	223,0	0,48	1,20	1,14	0,765	1,794	1,704	5,772					
20. II.	3	27	223,7	0,56	1,27	1,25	0,738	1,898	1,869	6,304					
Fleisch und Thyreoidin.															
22. II.	3	27	218,2	0,56	1,64	1,63	0,731	2,508	2,493	8,393	0,750 + 2,0 Proz.	3,331 + 74,0 Proz.	3,226 + 71,5 Proz.	10,907 + 67,9 Proz.	Futter: 30 g gekochtes Fleisch, 1 Thyreoidintablette
24. II.	3	26	205,3	0,61	2,13	2,00	0,774	3,452	3,249	11,024					
26. II.	3	26	189,4	0,36	1,85	1,80	0,747	3,256	3,168	10,706					
2. III.	3	25	180,5	0,62	2,01	1,93	0,758	3,714	3,574	12,105					
4. III.	3	25	182,4	0,51	1,97	1,88	0,761	3,608	3,443	11,665					
6. III.	3	26	173,0	0,48	1,75	1,78	0,730	3,449	3,430	11,551					
Fleisch, Thyreoidin und Fett.															
9. III.	3	25	173,3	0,84	2,11	1,97	0,778	4,066	3,796	12,904	0,760 + 2,9 Proz.	3,954 + 106,6 Proz.	3,779 + 100,9 Proz.	12,801 + 97,5 Proz.	Futter: 25 g gekochtes Fleisch, 1 Thyreoidintablette, 2 g Schweinefett
11. III.	3	26	191,0	0,36	2,26	2,19	0,750	3,944	3,822	12,920					
13. III.	3	25	190,0	0,55	2,29	2,17	0,767	4,018	3,807	12,918					
16. III.	3	25	193,0	0,42	2,34	2,21	0,769	4,042	3,818	12,961					
18. III.	3	25	183,2	0,43	2,13	2,06	0,751	3,817	3,692	12,480					
20. III.	3	25	178,0	0,42	1,99	1,94	0,745	3,834	3,738	12,624					
Fleisch und Thyreoidin.															
23. III.	3	25	175,2	0,39	1,83	1,75	0,760	3,486	3,333	11,290	0,761 + 2,9 Proz.	3,353 + 75,2 Proz.	3,202 + 70,2 Proz.	10,844 + 63,1 Proz.	Futter: 30 g gekochtes Fleisch, 1 Thyreoidintablette
25. III.	3	26	177,0	0,43	1,71	1,63	0,762	3,220	3,070	10,397					

Tabelle IX.

Ratte Nr.	Körpergewicht bei Beginn der Fütterung	Körpergewicht vor der Tötung	Körpergewicht Abnahme	Einverleibung des Präparats: Pepton Dauer Tage	Pepton Totalmenge g	Fleisch Dauer Tage	Fleisch Totalmenge g	Thyreoidin Dauer Tage	Thyreoidin Totalmenge g	Fett Dauer Tage	Fett Totalmenge g	Phlorrhizin mal	Phlorrhizin Totalmenge g	Glykogengehalt mg pro g Gewebe: Leber	Muskel	Bemerkungen
5	218	143	75	6	21	45	1210	45	41	18	54	13	0,54	0,0597	0,0885	
6	154	117	48	6	16	39	995	38	38	18	58	12	0,54	0,0787	0,0976	
7	181	133	75	7	21	37	910	37	32	7	21	9	0,36	0,0970	0,0994	2,1 g Rohrzucker für 37 Tage gegeben
8	187	122	65	6	18	42	1000	42	37	10	30	9	0,41	0,0683	0,0516	
9	195	142	53	7	20	49	1280	49	44	9	27	12	0,52	0,0716	0,0832	
10	225	148	77	7	21	50	1200	50	41	11	33	12	0,53	0,0963	0,1335	2,5 g Rohrzucker für 50 Tage gegeben
11	225	176	49	—	—	33	915	33	33	15	45	—	—	3,0681	1,6415	
12	223	177	46	—	—	33	915	33	33	15	45	—	—	2,1263	0,7542	
1	208	179	29	3	9	3	75	3	3	—	—	—	—	4,1360	4,9741	
2	220	188	42	6	18	8	200	8	8	—	—	1	0,05	0,2124	0,4350	
3	203	168	35	6	16	24	575	24	24	5	15	6	0,28	0,0852	0,1021	
4	196	167	29	6	16	10	250	10	10	—	—	2	0,09	0,1923	0,1134	

Es kann demnach kein Zweifel sein, daß beim kohlehydratarmen Tiere, hergestellt nach der von mir beschriebenen Methode, Fettzusatz auch dann, wenn entsprechend kalorisch etwas von der Grundnahrung weggelassen wurde, den Stoffwechsel ganz außerordentlich steigert. Von einer Sparwirkung des Fettes ist schlechterdings nichts zu sehen. Denn würde es eine solche entfalten, so brauchte zwar der Stoffwechsel nicht abzusinken, aber er möchte jedenfalls auf jener Höhe verbleiben, die er in der vorausgegangenen Periode erreicht hatte.

Es handelt sich jetzt darum, diese Stoffwechselsteigerung unter dem Einfluß des Fettes zu erklären. In erster Linie ist zu untersuchen, ob sie im Zusammenhang mit dem kohlehydratarmen Zustand steht oder ob sie auf anderen in meinen Versuchen gegebenen Versuchsbedingungen beruhe. Vor allem mußte daran gedacht werden, daß ich dauernd zum

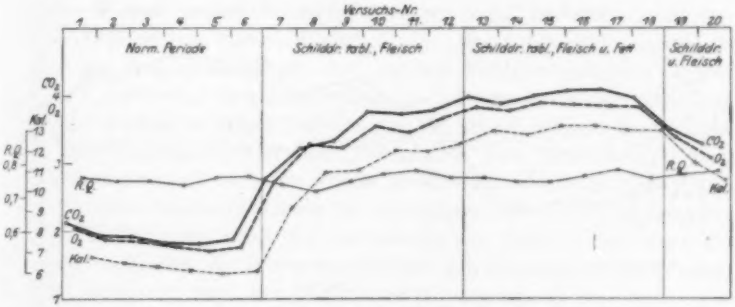


Abb. 7.

Zwecke der Erzeugung der Kohlehydratarmut bzw. der Verunmöglichung einer Glykogenbildung, welche trotz Phlorrhizininjektion schließlich stattfinden kann, mit Schilddrüsentabletten fütterte. Nun haben *Abelin* und *Niyazaki*[1]) gezeigt, daß unter der Einwirkung von Schilddrüse Fett eine sonst nicht oder kaum vorhandene spezifische dynamische Wirkung von fast bis zu 20 Proz. entfalten kann. An diese Wirkung mußte auch in meinen Versuchen gedacht werden, und aus diesem Grunde wurden die Kontrollversuche in Abb. 7 Ratte 11 und Abb. 8 Ratte 12 (Tabelle VII und VIII) angestellt. Hier zeigt sich nun tatsächlich, wo sowohl die Peptonfütterung wie auch die Phlorrhizininjektion weggelassen sind und nur Fleisch und Schilddrüsentabletten gefüttert werden, daß der Fettzusatz den Stoffwechsel weiter steigert, und zwar in dem Versuch Abb. 7 von 79,6 bzw. 79,7 bzw. 78,4 Proz. in der Periode mit Fleisch- und Thyreoidinfütterung auf

[1]) *Niyazaki* und *Abelin*, diese Zeitschr. **149**, 109, 1924.

109,4 bzw. 107,9 bzw. 107,7 Proz. während des Fettzusatzes, und in Versuch Abb. 8 von 74,0 bzw. 71,5 bzw. 67,9 Proz. auf 100,6, 100,9, 97,5 Proz. Also ist jedenfalls auch im nicht hochgradig kohlehydratarmen Zustand unter der Einwirkung von Fleisch- und Schilddrüsenfütterung eine Steigerung des Umsatzes infolge Fettzusatzes zur Nahrung zu konstatieren, eine Steigerung, welche unter normalen Bedingungen der Fettzusatz nicht hervorruft. Aber der Vergleich in den kurvenmäßigen Darstellungen wie auch in den Protokollen zeigt deutlich, daß die prozentischen Steigerungen des Stoffwechsels bei den äußerst kohlehydratarmen Tieren wesentlich höhere sind. Hierin kommt die Stoffwechselbedeutung des Fettzusatzes bei der von mir experimentell erzeugten Kohlehydratarmut zum Ausdruck.

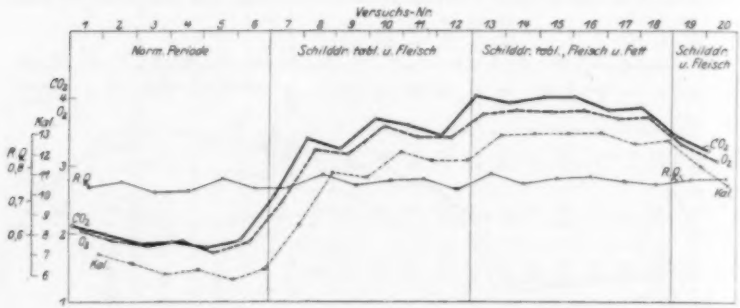


Abb. 8.

Es wäre noch nachzutragen, daß auch in den Kontrollversuchen nach Weglassung des Fettes der Grundumsatz wieder absinkt.

Es stellt sich daher als wesentliches Ergebnis heraus, daß bei den kohlehydratarmen Tieren der Zusatz von Fett den Grundumsatz noch um 20 Proz. weiter steigern kann, als die Steigerung beträgt bei mit Schilddrüsen gefütterten Tieren, die einen Fettzusatz erhalten. Die Bedeutung dieser Steigerung ist nicht leicht klarzulegen. Das Verhalten des respiratorischen Quotienten liefert keine Anhaltspunkte, denn praktisch gesprochen bleibt er in allen meinen Versuchen in bemerkenswerter Weise konstant. Die Versuche wurden u. a. deshalb angestellt, weil sie einen neuen Beitrag zur Frage der Entstehung von Zucker aus Fett geben sollten. Rein theoretisch würde man ein Absinken des respiratorischen Quotienten bei der Bildung von Zucker aus Fett erwarten, und man könnte daher aus der Konstanz des respiratorischen Quotienten die Vermutung ablehnen, daß eine Zuckerbildung stattgefunden hätte, die *Calvo Criado* in seinen Versuchen hat zeigen können. Diejenigen, welche sich vollständig ablehnend gegenüber der Möglichkeit der

Zuckerbildung aus Fett, abgesehen von derjenigen auf Rechnung von Glycerin, verhalten, werden geneigt sein, aus der Nichtveränderung des respiratorischen Quotienten eine Stütze ihrer Auffassung zu erblicken, aber das Gleichbleiben des respiratorischen Quotienten ließe sich aus meinen Versuchsbedingungen auf eine andere Weise erklären. Da die Tiere ihren Energiebedarf bei der hochgradigen Kohlehydratarmut nicht aus Kohlehydraten decken können, sind sie gezwungen, dies aus Eiweiß und überwiegend Fett zu tun. Dies prägt den Stoffwechselvorgängen den Stempel auf, und die auch nach unseren Auffassungen unter den obwaltenden Bedingungen geringfügige Zuckerbildung kann hieran nicht viel ändern. Auch ist daran zu denken, daß bei Phlorrhizininjektion wegen der Einwirkung der Schilddrüsenfütterung der etwa entstehende Zucker verbrennen muß, weil ja das Schilddrüsenhormon die Zuckerverbrennung außerordentlich fördert und keine Veranlassung bei den Tieren meiner Versuchsreihen vorliegt, die Möglichkeit der Zuckerverbrennung auszuschließen. Ja, es würde sich sogar die Steigerung des Stoffwechsels bei meinen kohlehydratarmen Tieren ganz gut unter der Annahme erklären, daß nun auch der zusätzlich gebildete Zucker verbrennt, aber unter der gleichzeitigen Einwirkung von Schilddrüsentabletten und Phlorrhizin jede Sparwirkung ausgeschlossen ist, und nach wie vor in erweitertem Umfange Eiweiß und Fett zerfallen. Auf Grund dieser Betrachtungen halte ich es für möglich, in meinen Befunden mich der Auffassung von *Calvo Criado* über die Bildung von Zucker aus Fett anzuschließen. Ich möchte aber anerkennen, daß die Kompliziertheit der Versuchsbedingungen auch eine davon abweichende Meinung zuläßt. Wo aber keine Meinungsverschiedenheit sein kann, ist darin, daß die Wirkung des Fettzusatzes auf das durch die Methode des Berner Physiologischen Instituts experimentell kohlehydratarm gemachte Tier Besonderheiten des Stoffwechsels in diesem Zustande enthüllt.

Zusammengefaßt sind die Resultate meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Es wurde der respiratorische Umsatz der nach der mehrfach beschriebenen Methode des Berner Physiologischen Instituts äußerst kohlehydratarm gemachten Ratte untersucht.

2. Fettzusatz in diesem kohlehydratarmen Zustande steigerte den schon ohnehin durch Schilddrüsenfütterung, Fleischfütterung und Phlorrhizininjektion hochgradig erhöhten Stoffwechsel.

3. Nach Weglassung des Fettes senkte sich der Stoffwechsel wiederum.

4. Kontrolltiere, die nur mit Fleisch und Schilddrüsentabletten unter Weglassung der Phlorrhizininjektion und der Vorfütterung mit

Pepton ernährt wurden, zeigten auch eine Erhöhung des Stoffwechsels bei Fettzusatz. Aber diese Erhöhung war wesentlich geringer, um 20 Proz. etwa, als diejenige bei den kohlehydratarmen Tieren.

5. Es werden die Gründe dafür angegeben, weshalb es möglich ist, in dieser Besonderheit des Stoffwechsels des kohlehydratarmen Tieres bei Fettzusatz die Möglichkeit einer Komponente zu erblicken, die in der Zuckerbildung aus Fett beruhen könnte. Es handelt sich aber nur um Möglichkeiten, nicht um Beweise.

Literatur.

H. Christ und *Geelmuyden*, Ergeb. d. Physiol. **21**, I, 1. Abt., S. 298, **334**, 1923. — *Dieselben*, ebendaselbst **22**, 150, 1923. — *P. Mayers*, ebendaselbst **22**, 243, 257, 1923. — *Graham Lusk*, ebendaselbst **12**, 315, 1912. — *Haldane*, Journ. of. Physiol. **13**, 419, 1892. — *W. Horrisberger*, diese Zeitschr. **121**, 65, 1921. — *V. Calvo Criado*, ebendaselbst **164**, 76, 1925. — *K. Takahashi*, ebendaselbst **154**, 444, 1924. — *K. Niyazaki* und *J. Abelin*, ebendaselbst **149**, 115, 1924. — *J. Abelin*, ebendaselbst **102**, 39, 1920. — *Derselbe*, ebendaselbst **101**, 207, 1919. — *K. Nakayama*, ebendaselbst **155**, 436, 1925.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 99.

Über die Wechselwirkung von Schilddrüse und Insulin.

Von

T. Okumura.

[Aus dem Physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern.]

(Eingegangen am 21. Juni 1926.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

Aus der älteren Literatur über Wechselwirkung von Organen mit innerer Sekretion ist die Vorstellung bekannt, welche seinerzeit *Eppinger*, *Falta* und *Rudinger* über die Wechselwirkung zwischen Schilddrüse und Pankreas aufgestellt haben. Auf Grund ihrer Stoffwechselversuche haben sie die Auffassung vertreten, daß sie in gegenseitig hemmender Beziehung zueinander stehen. Seitdem wir in den Besitz des Insulins gelangt sind, kann die Frage der etwaigen Wechselwirkung zwischen Schilddrüse und Pankreas auf einer etwas geänderten Basis und mit einer hierauf Rücksicht nehmenden Methodik erneut in Angriff genommen werden. Aber auch eine ganz andere Frage regt zu einer Untersuchung an, und das ist die Frage nach dem Wirkungsbereich des Insulins. Wenn auch nicht ausschließlich, so wird doch und mit Recht das Hauptaugenmerk auf die Beziehung zwischen Insulin und Kohlehydratstoffwechsel gelenkt. Es muß jedoch unter anderem auch angesichts der Beobachtungen, die man an pankreaslosen Tieren macht, daran gedacht werden, daß das Insulin nicht bloß ein Regulator des Kohlehydratstoffwechsels sei, sondern auch noch in andere Stoffwechselprosesse regulierend eingreife. Diese Frage läßt sich im Zusammenhang mit der etwaigen Wechselwirkung zwischen Schilddrüse und Insulin behandeln, und ich folgte der Anregung von Prof. *Asher*, einen von ihm entworfenen Plan nach diesem Gesichtspunkt zu bearbeiten.

Der Plan baute sich auf folgenden Gedankengang auf. Die Wirkung der Schilddrüse erstreckt sich nicht bloß auf die Kohlehydrate, sondern

auch auf Eiweißkörper und Fette. Diese Wirkung tut sich in Stoffwechselversuchen kund, z. B. bei Tieren, welche man mit Schilddrüse füttert. Insulin hat nun unzweifelhaft einen Einfluß auf den Kohlehydratumsatz. Diesen Einfluß kann man aber dadurch ausschließen, daß man genau so viel Futter gibt, wie durch die betreffende Insulindosis im Organismus verschwindet. Man kann gewissermaßen ein Gleichgewicht zwischen Kohlehydratverarbeitung durch Insulin und Zuckerzusatz in der Nahrung herstellen. Gibt man nun Tieren gleichzeitig Schilddrüse und Insulinzucker im Gleichgewicht, so fällt die Kohlehydratkomponente des Insulins weg. Wenn nun Insulin sonst noch eine Einwirkung auf den Stoffwechsel hat, so müßte sie sich in einer Abänderung des Stoffwechsels zeigen, die durch Schilddrüsenfütterung an und für sich erzeugt wird. Aus methodischen Gründen wäre es schließlich erforderlich, gleichzeitig mit der alleinigen Schilddrüsenzufuhr auch die nötige Zuckermenge zu geben. Auf Grund dieser Erwägungen gestaltet sich der Versuchsplan schließlich so, daß zuerst der normale Grundumsatz, dann der Grundumsatz bei Zufuhr von Schilddrüse und Zucker, dann der Grundumsatz bei Zufuhr von Insulin und Zucker, sodann der Grundumsatz bei Zufuhr von Schilddrüse, Insulin und Zucker, und zur Kontrolle zuletzt der Grundumsatz bei Schilddrüse und Zucker allein untersucht wird.

Meine Hauptversuche habe ich an Kaninchen angestellt. Es stand mir durch die Güte von Herrn Privatdozent Dr. *Isenschmid* der ihm gehörende Haldane-Guerbersche Apparat für Stoffwechselversuche an Kaninchen zur Verfügung. Ich möchte ihm auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank für die gütige Überlassung seines Apparats und der zugehörigen Wage aussprechen.

Zu meinen Hauptversuchen dienten als Versuchstiere vier Kaninchen. Die Kaninchen wurden mit Hafer und Rüben gefüttert. Alle Versuchstiere mußten 16 bis 20 Stunden vor jedem Versuch hungern.

In der zweiten Versuchsperiode, diejenige, wo Thyreoidintabletten und Zucker den Kaninchen gegeben wurde, habe ich 2 Tage vor dem ersten Versuch täglich zwei Thyreoidintabletten (Tabloid Thyreoidin Borroughs Welcome & Co., jede Tablette 0,3 g trockene Schafschilddrüse enthaltend) pro Kilogramm Körpergewicht im Futter gegeben. Ferner habe ich 60 bis 80 Minuten vor jedem Versuch die oben genannte Dosis Thyreoidintabletten und Traubenzucker 2,66 g pro Kilogramm Körpergewicht in warmem Wasser per os mit der Schlundsonde verabreicht.

In der dritten Periode (mit Insulin und Zucker) habe ich den ersten Versuch 2 bis 3 Tage nach der letzten Thyreoidinfütterung gemacht, um die Resultate möglichst wenig von dem Thyreoidinpräparat beein-

flussen zu lassen. Ich habe den Kaninchen 60 bis 80 Minuten vor jedem Versuch 2,66 g Traubenzucker pro Kilogramm Körpergewicht per os gegeben und etwa 30 Minuten vor dem Versuch zwei klinische Einheiten Insulin („Insulin Lilly", Eli Lilly & Co., Indianopolis, U. S. A., in 5 ccm 100 klinische Einheiten enthaltend) pro Kilogramm subkutan eingespritzt.

Da die Insulinwirkung mit der gleichzeitigen Zuckerzufuhr den respiratorischen Umsatz 30 Minuten nach der Injektion beeinflußt und nach $2\frac{1}{2}$ bis $3\frac{1}{2}$ Stunden zu Ende kommt, so ist es angezeigt, die Versuche mit Insulin nicht länger als 2 Stunden dauern zu lassen.

In der vierten Periode (mit Thyreoidin, Insulin und Zucker) habe ich wieder 2 Tage vor dem ersten Versuch zwei Thyreoidintabletten jeden Tag wie am Anfang der zweiten Periode gegeben und Thyreoidin, Zucker und Insulin im richtigen zeitlichen Verhältnis verabreicht. Die vierte Periode ist als Wiederholung der zweiten zu betrachten, um zu prüfen, ob nach Weglassung des Insulins und Beibehaltung der früheren Bedingungen die auf Insulineinfluß gedeuteten Erscheinungen wieder verschwinden.

Die Ergebnisse meiner Versuche habe ich in der üblichen Weise in den nachfolgenden vier Übersichtstabellen (Kaninchen 1, 3, 4 und 5) und den dazu gehörigen vier kurvenmäßigen Darstellungen niedergelegt.

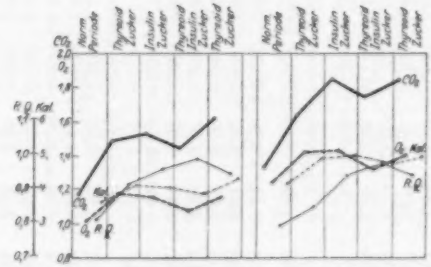


Abb. 1.

Abb. 2.

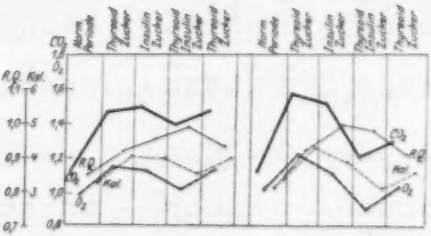


Abb. 3.

Abb. 4.

Tabelle I. Kaninchen 1, ♂.

Datum 1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und Proz. Steigerung	CO_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	O_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	Kalorien Mittelwert und Proz. Steigerung	Bemerkungen
Normaler Grundumsatz.															
15. II.	2	23	1844,5	3,69	4,45	4,31	0,750	1,206	1,168	4,027					16 bis 20 Stunden hungernd vor jedem Versuch
17. II.	2	23	1888,4	3,42	4,21	3,48	0,879	1,115	0,922	3,199					
18. II.	2	23	1921,6	3,38	4,58	3,99	0,833	1,192	1,038	3,564					
20. II.	2	23	1904,6	3,43	4,68	3,96	0,858	1,206	1,003	3,523	0,807	1,173	1,079	3,629	
23. II.	2	23,5	1813,0	3,49	4,59	4,21	0,788	1,263	1,164	3,970					
25. II.	2	23	1807,0	3,55	4,79	3,50	0,765	1,049	0,996	3,364					
27. II.	2	23	1801,3	3,44	4,25	3,98	0,775	1,180	1,150	3,753					
Ventilation: 80 Liter pro Stunde.															
Thyreoidin und Zucker.															Am 28. II., 1. III, 4 Thyreoidintabl. gegeben
2. III.	1,5	22,5	1891,5	2,36	3,91	3,10	0,916	1,376	1,119	3,815					4 Thyreoidintabl., 5,3 g Traubenzucker
4. III.	2	22,5	1887,0	3,68	5,61	4,20	0,970	1,486	1,113	3,919					Ebenso
6. III.	1,5	23	1898,0	2,53	4,41	3,37	0,950	1,550	1,184	4,155					"
9. III.	1,5	22	1715,6	2,09	3,72	2,97	0,910	1,447	1,155	4,023					"
11. III.	2	23	1761,0	3,12	5,36	4,57	0,836	1,494	1,298	4,461					"
13. III.	2	22,5	1741,6	3,21	5,52	4,37	0,918	1,586	1,255	4,372	0,917 + 13,6 Proz.	1,490 + 27,0 Proz.	1,187 + 10,0 Proz.	4,124 + 13,6 Proz.	"
Ventilation: 80 Liter pro Stunde.															
Insulin und Zucker.															Seit 13. III. Thyreoidin nicht mehr gegeben
16. III.	1,5	21	1751,0	2,03	3,98	2,92	0,990	1,516	1,112	3,932					4 E. Insulin, 5,3 g Zucker vor jedem Versuch
18. III.	2	21,5	1860,2	2,92	5,67	4,41	0,934	1,524	1,186	4,145					
20. III.	2	21	1918,0	3,04	6,05	4,59	0,957	1,614	1,224	4,289					
23. III.	2	21,5	2043,0	2,89	5,83	4,25	0,996	1,427	1,040	3,676					
25. III.	1,5	22	1911,3	2,47	4,38	3,65	0,950	1,564	1,197	4,197					
27. III.	2	20	2038,7	2,76	6,28	4,77	0,956	1,541	1,171	4,111	0,963 + 19,3 Proz.	1,531 + 30,5 Proz.	1,155 + 7,0 Proz.	4,058 + 11,8 Proz.	
Ventilation: 80 Liter pro Stunde.															
Thyreoidin, Insulin und Zucker.															Am 17., 18., 19. IV. 4 Thyreoidintabl. gegeben
20. IV.	1,5	21	2100,2	2,16	3,96	2,74	1,050	1,259	0,870	3,109					4 Thyreoidintabl., 5,3 g Zucker, 4 E. Insulin vor jedem Versuch gegeben
22. IV.	2	23	2006,5	2,92	5,72	4,13	1,006	1,426	1,029	3,652					
24. IV.	1,5	22	1970,1	1,88	4,42	3,31	0,970	1,496	1,121	3,856					
27. IV.	2	23	2032,7	2,98	5,68	4,19	0,985	1,398	1,031	3,637					
29. IV.	1,5	24	1906,9	2,47	4,74	3,67	0,938	1,659	1,284	4,497					
1. V.	2	25	1987,1	3,87	5,74	4,52	0,922	1,444	1,137	3,969	0,979 + 21,3 Proz.	1,444 + 23,1 Proz.	1,079 + 0,0 Proz.	3,787 + 4,4 Proz.	

Tabelle I (Fortsetzung).

Datum 1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und Proz. Steigerung	CO_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	O_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	Kalorien Mittelwert und Proz. Steigerung	Bemerkungen
Thyreoidin + Zucker (wieder).															4 Thyreoidintabl. 5,3 g Zucker vor jedem Versuch
4. V.	1,5	22	1788,4	2,40	4,38	3,43	0,928	1,634	1,040	4,473	0,949 + 18,6 Proz.	1,605 + 36,8 Proz.	1,149 + 6,5 Proz.	4,312 + 18,9 Proz.	
6. V.	2	20	1908,2	2,40	6,18	4,55	0,987	1,620	1,192	4,214					
8. V.	1,5	19	1760,8	1,95	4,12	3,20	0,933	1,561	1,215	4,250					
Ventilation: 80 Liter pro Stunde. + bedeutet Zunahme.															
Tabelle II. Kaninchen 3, ♀.															
Normaler Grundumsatz.															Nüchtern 16 Stunden vor jedem Versuch
16. II.	2	23	1976,7	3,29	4,59	4,34	0,768	1,161	1,098	3,798	0,790	1,310	1,228	4,169	
18. II.	2	23	2005,5	3,85	5,41	4,89	0,804	1,350	1,219	4,159					
20. II.	2	23	2024,9	3,42	4,94	4,33	0,829	1,226	1,075	3,689					
23. II.	2	23	2057,0	3,76	6,35	5,82	0,794	1,543	1,411	4,814					
25. II.	2	23,5	2130,9	4,73	5,93	5,49	0,785	1,391	1,288	4,380					
27. II.	1,5	23	1994,0	2,39	3,84	3,68	0,758	1,287	1,234	4,178					
Ventilation: 80 Liter pro Stunde.															
Thyreoidin und Zucker.															Am 1. III. 2 Thyreoidintabletten gegeben
2. III.	2	22,5	2038,0	3,58	5,52	5,09	0,787	1,354	1,250	4,261	0,848 + 7,4 Proz.	1,646 + 25,6 Proz.	1,410 + 14,9 Proz.	4,862 + 16,6 Proz.	4 Thyreoidintabl. u. 5,2 g Zucker gegeben (1 Std. vor jedem Versuch). Nüchtern 16 bis 20 Std.
4. III.	1,5	22,5	2030,0	2,48	4,50	3,98	0,821	1,478	1,308	4,478					
6. III.	1,5	23	1899,2	2,35	4,77	3,82	0,911	1,675	1,335	4,651					
9. III.	1,5	22	1804,0	2,23	4,61	3,62	0,925	1,704	1,328	4,670					
11. III.	2	23	1753,6	3,15	6,44	5,84	0,801	1,837	1,666	5,683					
13. III.	1,5	22	1715,7	2,44	4,70	4,05	0,843	1,828	1,575	5,428					
Ventilation: 80 Liter pro Stunde.															
Insulin und Zucker.															Seit 13. III. kein Thyreoidin gegeben
16. III.	2	22	1561,6	3,00	6,02	4,42	0,989	1,928	1,416	5,004	0,944 + 19,6 Proz.	1,849 + 41,1 Proz.	1,421 + 15,7 Proz.	4,986 + 19,6 Proz.	3 E. Insulin, 4 g Zucker
18. III.	1,5	21,5	1735,5	2,63	4,76	3,80	0,910	1,830	1,461	5,088					Ebenso
20. III.	2	24	1699,0	2,87	5,80	4,02	0,926	1,707	1,339	4,682					.
23. III.	1,5	22	1700,5	2,05	4,75	3,70	0,932	1,864	1,452	5,075					.
25. III.	2	22,5	1712,2	3,42	6,42	4,87	0,958	1,875	1,422	4,993					.
27. III.	2	22	1733,5	3,32	6,56	5,01	0,951	1,893	1,446	5,072					.
Ventilation: 75 bis 80 Liter pro Stunde.															

Tabelle II (Fortsetzung).

Datum 1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	H_2O-bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und Proz.	CO_2 Mittelwert und Proz.	O_2 Mittelwert und Proz.	Kalorien Mittelwert und Proz.	Bemerkungen
Thyreoidin, Insulin und Zucker.															Am 17., 18., 19. IV. tägl. 3 Thyreoidint. gegeben
20. IV.	2	21	1647,2	2,59	5,66	3,85	1,068	1,719	1,169	4,191	0,966	1,746	1,313	4,629	3 Thyreoidintabl., 4 g Zucker, 3 E. Insulin vor jedem Versuch gegeben
22. IV.	1,5	22	1598,5	2,05	4,35	3,48	0,908	1,815	1,452	5,059					
24. IV.	2	22	1650,3	2,87	5,86	4,39	0,970	1,776	1,330	4,684					
27. IV.	1,5	23	1595,0	1,99	4,01	3,09	0,943	1,677	1,292	4,525					
29. IV.	2	24	1574,0	2,86	5,48	4,17	0,955	1,741	1,325	4,648					
1. V.	1,5	25	1680,0	2,83	4,40	3,35	0,954	1,747	1,330	4,666					
											22,3 Proz.	33,3 Proz.	+ 6,9 Proz.	13,6 Proz.	
Ventilation: 75 bis 80 Liter pro Stunde.											+	+	+	+	
Thyreoidin und Zucker.															4 Thyreoidintabl., 4 g Zucker vor jedem Versuch gegeben
4. V.	2	22,5	1644,0	2,63	6,04	4,20	1,045	1,837	1,278	4,560	0,932	1,832	1,391	4,881	
6. V.	1,5	21	1675,6	2,13	3,84	2,95	0,946	1,529	1,175	4,118	+ 18,0	+ 39,8	+ 13,3	+ 17,1	
8. V.	2	19	1573,4	2,49	5,11	4,15	0,894	1,624	1,319	4,578	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	
Ventilation: 75 bis 80 Liter pro Stunde. + bedeutet Zunahme.															

Tabelle III. Kaninchen 4, ♂.

Normaler Grundumsatz.															16 bis 20 Stunden hungernd vor jedem Versuch
19. II.	2	23	2329,3	3,09	5,20	4,43	0,853	1,118	0,951	3,276					
22. II.	1,5	23	2426,0	2,17	4,16	3,46	0,873	1,143	0,951	3,289					
24. II.	2	23	2374,1	2,99	4,90	4,29	0,836	1,032	0,987	3,085	0,850	1,131	0,989	3,289	
26. II.	1,5	22,5	2377,0	2,56	4,39	3,80	0,839	1,232	1,066	3,666					
1. III.	2	23	2370,2	2,89	5,31	4,58	0,842	1,120	0,966	3,322					
3. III.	2	22,5	2348,5	3,13	5,27	4,48	0,855	1,123	0,954	3,292					
Thyreoidin und Zucker.															Am 3., 4. III. 4 Thyreoidintabletten gegeben
5. III.	1,5	22,5	2278,9	2,08	4,59	3,61	0,924	1,344	1,057	3,688					
8. III.	2	22	2254,7	2,77	5,75	4,92	0,849	1,276	1,092	3,760					4 Thyreoidintabl., 5,3 g Zucker vor jedem Versuch
10. III.	1,5	22	2181,4	2,34	5,07	4,11	0,896	1,550	1,257	4,362					
12. III.	2	22,5	2142,8	2,89	6,62	5,08	0,947	1,545	1,186	4,160					
15. III.	1,5	25	2130,6	2,97	5,14	3,86	0,969	1,609	1,260	4,246					
17. III.	2	23	2132,2	3,01	6,81	5,08	0,974	1,597	1,191	4,194	0,927	1,487	1,165	4,068	
											+ 0,9 Proz.	31,5 Proz.	17,8 Proz.	23,7 Proz.	
											+	+	+	+	

Datum 1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und Proz. Steigerung	CO_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	O_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	Kalorien Mittelwert und Proz. Steigerung	Bemerkungen
								Insulin und Zucker.							Seit 17. III. keine Thyreoidintabletten mehr gegeben
19. III.	2	22,5	2154,2	2,69	6,37	5,32	0,870	1,479	1,235	4,269	0,960	1,501	1,142	4,013	5,3 g Zucker und 4 E. Insulin v. jedem Versuch
22. III.	1,5	22	2116,0	1,80	4,57	3,45	0,962	1,440	1,087	3,818					
24. III.	2	24	2135,4	2,76	6,20	4,82	0,934	1,452	1,129	3,947					
26. III.	1,5	21	2152,5	2,13	4,84	3,57	1,008	1,500	1,107	3,925					
29. III.	2	22	2190,0	2,52	7,00	5,04	1,009	1,598	1,151	4,082					
31. III.	1,5	22	2164,5	2,39	4,98	3,71	0,975	1,535	1,143	4,035					
											+ 13,2 Proz.	+ 32,7 Proz.	+ 15,5 Proz.	+ 12,0 Proz.	
								Thyreoidin, Insulin und Zucker.							Am 17. u. 18. IV 4 Thyreoidintabl. gegeben
19. IV.	2	19	2236,0	2,20	6,01	4,08	1,070	1,344	0,912	3,271	0,991	1,406	1,035	3,656	4 Thyreoidintabl., 4 E. Insulin und 5,3 g Zucker vor jedem Versuch
21. IV.	1,5	23	2120,1	1,99	4,55	3,45	0,958	1,431	1,086	3,810					
23. IV.	2	22,5	2095,2	2,57	5,95	4,56	0,960	1,420	1,074	3,770					
26. IV.	1,5	22	2149,2	2,16	4,32	3,20	0,981	1,341	0,993	3,503					
28. IV.	2	23	2138,4	2,76	6,22	4,58	0,986	1,454	1,071	3,784					
30. IV.	1,5	24	2079,7	2,49	4,56	3,35	0,989	1,463	1,075	3,798					
											+	+ 24,3 Proz.	+ 4,7 Proz.	+ 11,2 Proz.	
								Thyreoidin und Zucker.							4 Thyreoidintabl., 5,3 g Zucker vor jedem Versuch
3. V.	1,5	23,5	2157,7	2,43	4,74	3,78	0,907	1,466	1,169	4,096	0,936	1,486	1,149	4,020	
5. V.	2	23	2138,7	2,83	6,50	4,90	0,964	1,525	1,146	4,032	+ 10,1 Proz.	+ 30,4 Proz.	+ 16,2 Proz.	+ 22,2 Proz.	
7. V.	1,5	20	2097,4	1,96	4,63	3,14	0,946	1,472	1,131	3,969					

Ventilation: 80 Liter pro Stunde. + bedeutet Zunahme.

Tabelle IV. Kaninchen 5, ♂.

								Normaler Grundumsatz.							16 bis 20 Stunden hungernd v. jedem Versuch
19. II.	2	24	2506,8	3,39	5,31	4,61	0,837	1,060	0,920	3,163					
22. II.	2	23	2554,6	3,97	5,87	5,68	0,751	1,149	1,112	3,758					
24. II.	1,5	22,5	2493,3	2,33	4,49	4,05	0,805	1,201	1,084	3,697	0,814	1,139	1,020	3,485	
26. II.	1,5	22,5	2359,3	2,02	3,95	3,32	0,864	1,145	0,963	3,322					
1. III.	2	23	2355,2	3,01	5,67	4,89	0,842	1,232	1,062	3,661					
3. III.	2	22,5	2362,0	2,93	5,59	4,78	0,849	1,184	1,012	3,486					

Tabelle IV (Fortsetzung).

Datum 1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro g und Stunde	O_2 pro g und Stunde	Kalorien pro g und Stunde	R. Q. Mittelwert und Proz. Steigerung	CO_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	O_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	Kalorien Mittelwert und Proz. Steigerung	Bemerkungen
Thyreoidin und Zucker.															Am 3., 4. III. 4 Thyreoidintabletten gegeben
5. III.	1,5	23	2383,7	2,48	5,02	3,99	0,914	1,405	1,117	3,892	0,926	1,592	1,244	4,349	5 Thyreoidintabl., 6,6 g Zucker vor jedem Versuch
8. III.	2	22	2374,0	3,32	7,46	5,75	0,942	1,571	1,211	4,251					
10. III.	2	22	2258,8	3,55	7,35	5,60	0,869	1,665	1,360	4,701					
12. III.	1,5	22	2314,0	2,08	5,53	4,34	0,926	1,594	1,251	4,374					
15. III.	2	22	2278,3	3,66	7,80	5,80	0,977	1,712	1,273	4,495					
17. III.	2	23	2198,6	2,39	7,05	5,51	0,929	1,604	1,253	4,383	+ 13,7 Proz.	+ 38,9 Proz.	+ 22,9 Proz.	+ 24,8 Proz.	
Insulin und Zucker.															Seit 17. III. kein Thyreoidin gegeben
19. III.	2	24	2255,5	3,47	7,48	5,38	1,008	1,659	1,195	4,339	1,001	1,527	1,109	3,924	6,6 g Zucker, 5 E. Insulin vor jedem Versuch
22. III.	1,5	21,5	2386,2	2,25	5,62	4,26	0,959	1,571	1,191	4,181					
24. III.	2	22	2498,0	3,10	7,92	5,51	1,044	1,585	1,103	3,933					
26. III.	1,5	22,5	2506,2	2,22	5,50	4,15	0,963	1,464	1,105	3,877					
29. III.	2	23	2562,3	3,28	7,93	5,51	1,045	1,548	1,076	3,838					
31. III.	2	22,5	2639,5	3,11	7,05	5,19	0,987	1,336	0,983	3,476	+ 23,0 Proz.	+ 34,1 Proz.	+ 6,3 Proz.	+ 12,6 Proz.	
Thyreoidin, Insulin und Zucker.															Am 17., 18. IV. 4 Thyreoidintabl. gegeben
19. IV.	1,5	20	2971,0	1,79	4,87	3,63	0,975	1,092	0,815	2,869	0,985	1,223	0,905	3,195	5 Thyreoidintabl., 5 E. Insulin u. 6,6 g Zucker vor jedem Versuch
21. IV.	2	23	2816,4	2,32	5,95	4,14	1,044	1,057	0,735	2,622					
23. IV.	1,5	22	2797,2	2,18	5,33	4,21	0,920	1,271	1,004	3,503					
26. IV.	2	23	2863,2	3,08	7,90	5,52	1,040	1,380	0,964	3,438					
28. IV.	1,5	23,5	2706,9	2,32	5,24	4,14	0,919	1,291	1,021	3,564					
30. IV.	2	24	2792,0	3,58	6,95	4,98	1,014	1,245	0,892	3,163	+ 21,0 Proz.	+ 7,4 Proz.	− 11,0 Proz.	− 8,4 Proz.	
Thyreoidin und Zucker.															
3. V.	2	24	2700,0	3,67	6,76	4,94	0,994	1,252	0,915	3,233	0,922	1,309	1,037	3,614	4 Thyreoidintabl., 6,6 g Zucker vor jedem Versuch
5. V.	1,5	23	2720,8	2,50	5,53	4,48	0,897	1,356	1,089	3,828	+ 13,3 Proz.	+ 14,9 Proz.	+ 1,7 Proz.	+ 3,8 Proz.	
7. V.	2	22	2731,5	2,63	7,21	5,99	0,874	1,320	1,096	3,792					

Ventilation: 80 Liter pro Stunde. + bedeutet Zunahme. − Abnahme.

Aus den vorstehenden Tabellen und Kurven ergibt sich ein übereinstimmendes Bild in den einzelnen Versuchsperioden und insbesondere ein ganz einheitliches Ergebnis in der Hauptperiode derjenigen, wo Schilddrüse, Insulin und Zucker gemeinschaftlich gegeben wurde.

Ich will kurz das Wesentliche in einer Betrachtung der aus den Mittelwerten der einzelnen Versuchsperioden errechneten prozentischen Veränderungen des respiratorischen Umsatzes und der Kalorienbildung zusammenfassen. In dem ersten Versuch ist eine Steigerung der Kohlensäurebildung und des Sauerstoffverbrauchs unter der Einwirkung von Schilddrüse und Zucker von 27 bzw. 10 Proz. eingetreten; die Kalorienbildung ist um 13,6 Proz. gestiegen. Unter der Einwirkung von Insulin und Zucker erhebt sich die Kohlensäureausscheidung bis auf 30,5 Proz. über den Grundumsatzwert, hingegen der Sauerstoffverbrauch nur auf 7 Proz., die Kalorienbildung auf 11,8 Proz. Nach diesen Werten verhält sich der Grundumsatz unter der Einwirkung von Schilddrüse und Zucker und von Insulin und Zucker annähernd gleich. Vielleicht spricht sich die größere Zuckerverbrennung in der Insulin-Zuckerperiode durch den noch etwas größeren respiratorischen Prozentsatz und der größeren Kohlensäurebildung bei geringerem Sauerstoffverbrauch aus.

In der nachfolgenden Hauptperiode der Thyreoidin-, Insulin- und Zuckerzufuhr tritt eine deutliche Senkung der Kohlensäurebildung und des Sauerstoffverbrauchs auf, indem die prozentische Steigerung bei der ersteren nur noch 23 Proz. beträgt und der Sauerstoffverbrauch 0proz. Steigerung. Die Erhöhung der Kalorienbildung ist nur noch 4.4 Proz. Dabei ist die Umsetzung des Zuckers eher noch größer, da der respiratorische Quotient auf 0,979 gestiegen ist. Also ist tatsächlich, symptomatisch gesprochen, ein Antagonismus zwischen dem Insulin und der Schilddrüse aufgetreten, indem die Stoffwechselwirkung der Schilddrüse mit Zuckerzusatz unter dem Einfluß des Insulins geringer geworden ist.

In der nachfolgenden Periode, wo wiederum nur Schilddrüse und Zucker gegeben wird, erhöht sich die Kohlensäureausscheidung um 36,8 Proz. über den Grundumsatz, der Sauerstoffverbrauch auf 6,5 und die Kalorienbildung auf 18,9. Der antagonistische Einfluß des Insulins ist beseitigt.

Genau die gleichen Verhältnisse liegen bei Kaninchen 3 vor. In der Thyreoidin-Zuckerperiode ist die prozentische Steigerung der Kohlensäurebildung 25,6, des Sauerstoffs 14,9, der Kalorienbildung 16,6. In der Insulin-Zuckerperiode betragen die entsprechenden Werte 41,1, 15,7, 19,6. Die Zuckerverbrennung ist wesentlich erhöht, indem

der respiratorische Quotient 0,944 beträgt, während er in der vorauf-gehenden Periode sich auf 0,848 belief. Als in der nächsten Periode Schilddrüse, Insulin und Zucker einwirkten, ist zwar der prozentische Kohlensäureverbrauch etwas höher als in der Schilddrüsenperiode, indem die Steigerung 33,3 Proz. beträgt, aber der Sauerstoffverbrauch ist wesentlich geringer, nur 6,9 Proz. Steigerung, die Kalorienbildung nur 13,6. Die Kohlehydratverbrennung ist nach dem Werte des respiratorischen Quotienten noch höher als vorher. Es ist also jeden-falls trotz des erhöhten Zuckerverbrauchs eine Verminderung der kalorigenen Wirkung der Schilddrüse eingetreten. Die Erhöhung, der Einfluß der Schilddrüse, tritt wieder in der letzten Periode, nach Weg-lassung des Insulins, hervor, indem die Werte fast quantitativ zu derjenigen der zweiten Periode zurückkehren.

Die Werte bei Kaninchen 4, Tabelle III, zeigen genau das gleiche, wie die vorhergehenden; auch hier ist wieder deutlich in der Periode der Thyreoidin- und Insulin-Zuckereingabe die pro-zentische Steigerung des Sauerstoffverbrauchs und der Kalorien-bildung über den Grundumsatz am kleinsten, während die Zucker-verbrennung am größten ist.

Die Versuchsreihe von Kaninchen 5, Tabelle IV, zeigt wohl die hemmende Wirkung des Insulins auf die Schilddrüsenwirkung in der allerausgesprochensten Weise, indem die prozentische Steigerung des Kohlensäureverbrauchs nur noch 7,4 Proz. beträgt, während der Sauer-stoffverbrauch sogar gegenüber dem normalen Grundumsatz eine Verminderung um 11,0 Proz. zeigt und die Kalorienbildung eine Ver-minderung um 8,4 Proz.

Aus den Resultaten dieser vier Versuchsreihen ergibt sich, daß die Erhöhung des Stoffwechsels, den die Schilddrüse bei gleichzeitiger Zuckereingabe bewirkt, unter dem Einfluß von Insulin zurückgedrängt wird. Diese Zurückdrängung rührt nicht etwa davon her, daß unter dem Einfluß von Insulin durch Hypoglykämie eine Verminderung des Stoffwechsels eingetreten wäre. Denn ich habe ja die Insulinwirkung durch Zucker equilibriert. Es ist zwar eine kleine Erhöhung des Kohle-hydratumsatzes unter der Insulinwirkung zu beobachten, aber diese Erhöhung ist doch im großen und ganzen geringfügiger Natur. Eben wegen der Geringfügigkeit dieser Steigerung scheint es mir auch aus-geschlossen, die Herabsetzung der stoffwechselsteigernden Wirkung der Schilddrüse auf eine vermehrte Zuckerverbrennung zurückzuführen, indem etwa die sparende Wirkung des Zuckers zur Geltung gekommen wäre. Man wird diesen Faktor im Auge behalten müssen, aber quantitativ reicht er unter den obwaltenden Versuchsbedingungen nicht zur Er-klärung hin. Deshalb kann man wohl zu der ursprünglich von *Eppinger*,

Falta und *Rudinger* aufgestellten Vorstellung gelangen, daß Insulin eine dem Schilddrüsenhormon entgegengesetzte Wirkung besitzt. Faßt man die starke kalorigene Wirkung des Schilddrüsenhormons als eine Reizwirkung des Protoplasmas auf, so daß dasselbe befähigt wird, in erhöhtem Umfang Eiweiß und Fett in den Umsatz einzubeziehen, so folgt aus meinen Ergebnissen, daß Insulin auch in diesen Umsatz eingreift, und zwar in entgegengesetzter Weise. Vorausgesetzt, daß diese Schlußfolgerungen richtig sind, so hätten die vorstehenden Untersuchungen mit einer neuen Methode wahrscheinlich gemacht, daß Insulin nicht bloß ein individuelles Hormon, nach der Nomenklatur von *Asher*, auf den Kohlehydratstoffwechsel sei, sondern doch etwas allgemeinerer Natur, indem es auch in die Umsetzungen von Eiweiß und Fett eingreift. Schilddrüsenhormon und Insulin würden mit zu den allgemeinen antagonistischen Reguliermitteln gehören, über welche der Organismus in so reichlichem Maße verfügt.

Zusammengefaßt sind die Resultate meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Es wurde eine Methode ausgearbeitet, um die Wechselwirkung von Schilddrüsenhormon und Insulin zu prüfen und gleichzeitig die Frage zu untersuchen, ob das Insulin außer in den Kohlehydratstoffwechsel auch in denjenigen des Eiweißes und der Fette eingreift.

2. Die Methode besteht im wesentlichen darin, daß die Insulinwirkung auf den Kohlehydratumsatz durch gleichzeitige Zuckereingaben equilibriert wird und Stoffwechselperioden miteinander verglichen werden, in denen einmal Schilddrüse und Zucker, das andere Mal Insulin und Zucker und schließlich Schilddrüse, Insulin und Zucker gegeben werden.

3. Das wesentlichste Ergebnis besteht darin, daß Insulin die stoffwechselsteigernde Wirkung der Schilddrüse in einem gewissen Umfang merklich zurückdrängen kann.

4. Da Insulin-Zucker allein für sich schon den Stoffwechsel steigert und die quantitativen Verhältnisse der Kohlehydratumsetzung in den verschiedenen Versuchsperioden nicht allzu verschieden voneinander sind, ist es unwahrscheinlich, daß die Zurückdrängung der Schilddrüsenwirkung auf einer Sparwirkung der Zuckerverbrennung beruht, vielmehr liegt im Sinne *Eppinger*, *Falta* und *Rudinger* ein Antagonismus zwischen Schilddrüse und Insulin vor.

5. Zugleich sind Anhaltspunkte dafür gewonnen, daß Insulin nicht bloß in den Kohlehydratstoffwechsel, sondern auch in denjenigen der Eiweißstoffe und Fette regulierend eingreift.

Anhang: *Versuche an Ratten.*

Ratte C, ♂.

Datum 1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und Proz. Steigerung	CO_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	O_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	Kalorien Mittelwert und Proz. Steigerung	Bemerkungen
Normaler Grundumsatz.															
16. II.	3	26	215,8	0,25	1,05	1,03	0,740	1,628	1,598	5,388					Normales Futter. 16 Stdn. hungernd vor jedem Versuch
18. II.	3	27	208,7	0,48	1,05	1,02	0,749	1,685	1,637	5,531					
20. II.	3	27	217,6	0,29	1,16	1,10	0,766	1,782	1,690	5,723					
23. II.	3	26	215,6	0,91	1,16	1,12	0,752	1,799	1,737	5,870	0,745	1,703	1,662	5,608	
25. II.	3	25	215,4	0,78	1,09	1,08	0,733	1,690	1,675	5,639					
27. II.	3	26	214,7	0,48	1,08	1,06	0,740	1,682	1,651	5,571					
2. III.	3	26	212,9	0,44	1,06	1,05	0,734	1,659	1,644	5,537					
Thyreoidin und Zucker.															Am 3., 4. III. 1 Thyreoidintablette gegeben
5. III.	3	25	227,5	0,72	1,74	1,18	1,071	2,555	1,733	6,200					1 Thyreoidintabl., 4 bis 5 g Zucker vor jedem Versuch
8. III.	3	25	213,6	0,62	1,72	1,32	0,946	2,692	2,066	7,248					
10. III.	3	26	201,3	0,51	1,69	1,42	0,865	2,803	2,351	8,126					
12. III.	3	25	202,7	0,54	1,93	1,67	0,840	3,185	2,756	9,497					
15. III.	3	24	194,3	0,77	1,88	1,62	0,843	2,230	2,784	9,570					
17. III.	3	25	195,0	0,69	1,76	1,47	0,870	3,009	2,513	8,688					
											0,905 + 21,5 Proz.	2,912 + 71,0 Proz.	2,384 + 43,5 Proz.	8,222 + 46,6 Proz.	
Insulin und Zucker.															
19. III.	2	25	186,7	0,41	1,06	0,82	0,939	2,849	2,204	7,720					4 bis 5 g Zucker und 8 E. Insulin vor jedem Versuch
23. III.	2	24	200,5	0,46	1,14	0,81	1,022	2,843	2,020	7,178					
25. III.	2	23	204,6	0,29	1,31	0,95	1,002	3,211	2,319	8,252					
27. III.	2	26	217,0	0,33	1,14	0,95	0,872	2,627	2,189	7,568					
29. III.	2	25	216,7	0,31	1,08	0,84	0,934	2,500	1,945	6,799					
31. III.	2	25	210,5	0,36	1,14	0,88	0,941	2,714	2,095	7,338					
											0,952 + 27,8 Proz.	2,791 + 63,9 Proz.	2,129 + 31,9 Proz.	7,476 + 33,3 Proz.	
Thyreoidin, Insulin und Zucker.															Am 17., 18. IV. 1 Thyreoidintablette
19. IV.	2	20	251,6	0,35	1,21	1,02	0,862	2,410	2,032	7,012					4 bis 5 g Zucker und 8 E. Insulin vor jedem Versuch
21. IV.	2	26	248,7	0,33	1,25	0,94	0,966	2,520	1,895	6,652					
23. IV.	2	25	233,6	0,39	1,39	1,26	0,802	2,983	2,704	9,225					
26. IV.	2	25	239,8	0,42	1,25	1,03	0,882	2,615	2,155	7,461					
28. IV.	2	25	221,3	0,52	1,39	1,16	0,870	3,145	2,625	9,074					
30. IV.	2	24	236,6	0,69	1,72	1,26	0,992	3,644	2,570	9,435					
											0,896 + 20,3 Proz.	2,886 + 69,5 Proz.	2,330 + 40,2 Proz.	8,143 + 45,2 Proz.	

Datum	Versuchsdauer	Temperatur im Kasten	Körpergewicht	H_2O-Bildung	CO_2-Bildung	O_2-Verbrauch	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	R. Q.	CO_2	O_2	Kalorien	Bemerkungen
1926	Stdn.	°C	g	g	g	g		pro kg und Stunde			Mittelwert und Proz. Steigerung				
Thyreoidin und Zucker.															
4. V.	2	23	212,5	0,42	1,47	1,13	0,945	3,467	2,665	9,351	0,937	3,471	2,690	9,409	1 Thyreoidintabl., 4 bis 5 g Zucker vor jedem Versuch
6. V.	2	22	221,3	0,47	1,61	1,24	0,943	3,643	2,806	9,825	+ 58,3 Proz.	+ 103,8 Proz.	+ 61,9 Proz.	+ 67,8 Proz.	
8. V.	2	23	213,0	0,39	1,41	1,11	0,923	3,302	2,600	9,051					
Ratte E, ♂.															
Normaler Grundumsatz.															Normales Futter. 16 Stdn. hungernd vor jedem Versuch
17. II.	3	27	220,3	0,26	1,50	1,44	0,774	2,273	2,132	7,235					
19. II.	3	27	219,8	0,32	1,35	1,35	0,726	2,055	2,055	6,919					
22. II.	3	27	221,0	0,40	1,35	1,32	0,743	2,036	1,991	6,716					
24. II.	3	27	216,5	0,34	1,28	1,27	0,732	1,978	1,960	6,600	0,740	2,067	2,027	6,860	
26. II.	3	26	213,0	0,39	1,31	1,28	0,743	2,050	2,003	6,916					
1. III.	3	25	210,8	0,29	1,29	1,29	0,726	2,048	2,048	6,895					
3. III.	3	25	212,8	0,47	1,29	1,27	0,738	2,028	1,998	6,737					
Thyreoidin und Zucker.															Am 3., 4. III. 1 Thyreoidintablette gegeben
5. III.	3	25	210,2	0,41	1,57	1,33	0,857	2,492	2,111	7,285					
8. III.	3	25	206,7	0,49	1,64	1,24	0,963	2,654	2,007	7,044					1 Thyreoidintabl., 4 bis 5 g Zucker vor jedem Versuch
10. III.	3	26	210,0	0,39	2,08	1,71	0,884	3,302	2,714	9,402					
12. III.	3	25	208,5	0,46	2,25	1,65	0,991	3,605	2,644	11,765	0,930	3,342	2,614	9,537	
15. III.	3	26	207,4	0,54	2,45	1,91	0,934	3,945	3,076	10,754	+ 25,7 Proz.	+ 61,7 Proz.	+ 29,0 Proz.	+ 39,0 Proz.	
17. III.	3	25	201,0	0,47	2,47	1,89	0,949	4,096	3,134	10,972					
Insulin und Zucker.															4 bis 5 g Zucker und 8 E. Insulin vor jedem Versuch
19. III.	3	26	193,6	0,50	1,86	1,37	0,986	3,212	2,366	8,346					
23. III.	2	24	192,0	0,37	1,37	0,99	1,005	3,568	2,579	9,116					
25. III.	2	25	182,7	0,34	1,21	0,91	0,966	3,324	2,500	8,804					
27. III.	2	26	178,7	0,22	1,18	0,99	0,866	3,315	2,781	9,615	0,960	3,337	2,531	8,886	
29. III.	2	25	179,5	0,24	1,18	0,88	0,974	3,296	2,458	8,655	+ 29,7 Proz.	+ 61,4 Proz.	+ 24,9 Proz.	+ 29,5 Proz.	
31. III.	2	25	180,3	0,33	1,19	0,90	0,961	3,306	2,500	8,777					

Ratte E (Fortsetzung).

Datum 1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g	R.Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R.Q. Mittelwert und Proz. Steigerung	CO_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	O_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	Kalorien Mittelwert und Proz. Steigerung	Bemerkungen
Thyreoidin, Insulin und Zucker.															Am 17., 18. IV. 1 Thyreoidintablette gegeben
19. IV.	2	25	189,9	0,25	1,26	1,14	0,803	3,316	3,000	10,235	0,936 + 26,5 Proz.	4,025 + 94,7 Proz.	3,117 + 53,8 Proz.	10,910 + 59,0 Proz.	1 Thyreoidintabl., 4 bis 5 g Zucker und 8 E. Insulin vor jedem Versuch
21. IV.	2	26	204,0	0,22	1,51	1,21	0,906	3,701	2,966	10,330					
23. IV.	2	25	193,7	0,38	1,56	1,26	0,899	4,041	3,264	11,349					
26. IV.	2	25	206,6	0,38	1,72	1,26	0,992	4,199	3,058	10,809					
28. IV.	2	24	202,3	0,50	1,80	1,28	1,022	4,455	3,168	11,259					
30. IV.	2	24	214,6	0,76	1,90	1,39	0,993	4,439	3,248	11,478					
Thyreoidin und Zucker.															
4. V.	2	23	210,0	0,49	1,83	1,41	0,943	4,557	3,357	11,758	0,960 + 29,7 Proz.	4,486 + 117,0 Proz.	3,390 + 67,3 Proz.	11,920 + 73,9 Proz.	1 Thyreoidintabl., 4 bis 5 g Zucker vor jedem Versuch
6. V.	2	22	221,6	0,44	2,03	1,48	0,996	4,593	3,349	11,835					
8. V.	2	23	213,5	0,50	1,92	1,48	0,942	4,507	3,474	12,167					
***Ratte F*, ♀.**															
Normaler Grundumsatz.															
17. II.	3	27	183,5	0,32	1,18	1,12	0,766	2,149	2,040	6,922	0,743	2,030	1,985	6,724	Normales Futter. 16 Stdn. hungernd vor jedem Versuch
19. II.	3	27	182,0	0,41	1,08	1,07	0,733	1,978	1,960	6,796					
22. II.	3	26	180,0	0,39	1,09	1,09	0,726	2,019	2,019	6,798					
24. II.	3	26	176,7	0,47	1,08	1,04	0,754	2,045	1,970	6,658					
26. II.	3	27	172,9	0,37	1,02	1,04	0,713	1,977	2,015	6,753					
1. III.	3	26	179,0	0,49	1,06	1,01	0,762	1,974	1,881	6,370					
3. III.	3	26	174,6	0,43	1,08	1,05	0,747	2,069	2,011	6,799					
Thyreoidin und Zucker.															Am 3., 4. III. 1 Thyreoidintablette gegeben
5. III.	3	26	170,9	0,42	1,41	1,20	0,854	2,765	2,353	8,015	0,989 + 20,8 Proz.	3,544 + 74,6 Proz.	2,864 + 44,3 Proz.	9,965 + 48,2 Proz.	1 Thyreoidintabl., 4 bis 5 g Zucker vor jedem Versuch
8. III.	3	25	173,4	0,39	1,69	1,40	0,877	3,256	2,698	9,344					
10. III.	3	25	171,0	0,48	1,89	1,54	0,890	3,684	3,002	10,417					
12. III.	3	26	169,2	0,37	1,96	1,42	1,003	3,866	2,801	9,903					
15. III.	3	25	168,0	0,51	1,91	1,61	0,862	3,790	3,195	11,024					
17. III.	3	26	170,5	0,48	1,99	1,60	0,904	3,902	3,137	10,907					

Ratte F (Fortsetzung).

Ratte F (Fortsetzung).

Datum 1926	Versuchsdauer Stdn.	Temperatur im Kasten °C	Körpergewicht g	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g	R. Q.	CO_2 pro kg und Stunde	O_2 pro kg und Stunde	Kalorien pro kg und Stunde	R. Q. Mittelwert und Proz. Steigerung	CO_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	O_2 Mittelwert und Proz. Steigerung	Kalorien Mittelwert und Proz. Steigerung	Bemerkungen
Insulin und Zucker.															
19. III.	2	24	167,8	0,47	1,21	0,94	0,955	3,623	2,755	9,670	0,950 + 27,9 Proz.	3,568 + 75,6 Proz.	2,731 + 37,6 Proz.	10,164 + 51,2 Proz.	4 bis 5 g Zucker, 8 E. Insulin vor jedem Versuch
23. III.	2	25	174,0	0,57	1,21	0,81	1,085	3,477	2,328	10,526					
25. III.	2	26	161,5	0,46	1,16	0,95	0,887	3,603	2,950	10,240					
27. III.	2	25	162,7	0,30	1,17	0,91	0,926	3,581	2,809	9,820					
29. III.	2	25	160,0	0,37	1,16	0,94	0,895	3,620	2,937	10,212					
31. III.	2	26	163,2	0,36	1,11	0,85	0,949	3,405	2,607	10,517					
Thyreoidin, Insulin und Zucker.															Am 17., 18. IV. 1 Thyreoidintablette gegeben
19 IV.	2	25	158,8	0,23	1,15	0,94	0,889	3,621	2,960	10,460	0,947 + 27,5 Proz.	3,950 + 94,6 Proz.	3,102 + 56,3 Proz.	10,666 + 58,7 Proz.	1 Thyreoidintabl., 4 bis 5 g Zucker und 8 E. Insulin
21. IV.	2	26	155,8	0,37	1,16	0,85	0,991	3,742	2,742	9,692					
23. IV.	2	25	148,5	0,43	1,18	0,93	0,922	3,986	3,142	10,963					
26. IV.	2	25	156,4	0,50	1,20	0,88	0,991	3,846	3,221	9,969					
28. IV.	2	26	151,4	0,55	1,33	0,96	1,006	4,404	3,179	11,250					
30. IV.	2	24	150,1	0,69	1,21	1,01	0,885	4,100	3,367	11,662					
Thyreoidin und Zucker.															
4. V.	2	23	149,0	0,40	1,35	1,03	0,952	4,530	3,457	12,127	0,885 + 19,1 Proz.	4,437 + 118,6 Proz.	3,650 + 83,9 Proz.	12,747 + 89,9 Proz.	1 Thyreoidintabl., 4 bis 5 g Zucker vor jedem Versuch
6. V.	2	22	135,1	0,40	1,21	1,02	0,823	4,280	3,778	13,248					
8. V.	2	23	140,0	0,47	1,26	1,04	0,880	4,500	3,714	12,865					

\+ bedeutet Zunahme.

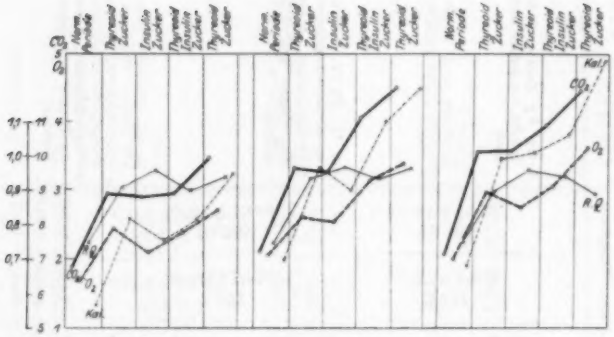


Abb. 5. Abb. 6. Abb. 7.

Literatur.

Asher und *Spiro*, Ergeb. d. Physiol. **22**, 292, 1923. — *Dieselben*, ebendaselbst **23**, 22, 139, 144, 158, 184, 1925. — *H. Staub*, Insulin, ebendaselbst **23**, 65, 103, 1925. — *Haldane*, Journ. of Physiol. **13**, 419, 1892. — *H. Eppinger*, *W. Falta* und *C. Rudinger*, Zeitschr. f. Klin. Med. **66**, 1, 1908; **67**, 1, 1908; **71**, 1, 1913.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 100.

Fortgesetzte Untersuchungen über die Funktion der Milz als eines Organs des Eisenstoffwechsels.

Von

N. Scheinfinkel.

[Aus dem physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern.]

(Eingegangen am 21. Juni 1926.)

Die eigentümlichen Schwierigkeiten, welche der Erforschung der Funktion der Milz gegenüberstehen, können nicht scharf genug hervorgehoben werden. Eine der elementarsten Tatsachen beleuchtet wohl am schärfsten die Situation, nämlich die, daß es wohl kaum ein anderes unpaariges Eingeweideorgan im tierischen Körper gibt, wo in so zahlreichen Fällen anscheinend sich so gar nichts im Verhalten des Tieres innerhalb seiner Umwelt ändert, und selbst das Wachstum, wie zuerst *Asher* und *Grossenbacher*[1]) gezeigt haben, im normalen Ablauf nicht gestört wird. Solche Tatsachen deuten doch offenbar, wenn man nicht in unbiologischer Weise der Milz überhaupt eine Funktion von irgendwelcher Bedeutung absprechen will, nach der Richtung, daß die Milz in ein Funktionsgetriebe eingreift, in welchem sie nicht unentbehrlich ist, weil an diesem Funktionsgetriebe andere Organe einen Anteil haben, oder, anders ausgedrückt, daß im Organismus mehr oder weniger reichlich für Kompensation des Ausfalls der Milzfunktion gesorgt sei. Von solchem Standpunkt aus wird es unschwer verständlich, daß die

[1]) *Asher* und *Grossenbacher*, diese Zeitschr. **17**, 78, 1909.

Ergebnisse der verschiedenen Untersucher nicht gleich, ja sogar gelegentlich entgegengesetzt ausfallen können, daß eine Fülle von individuellen Eigenschaften von Fall zu Fall das Bild anders gestalten können. Daher wird man mit wachsender Erfahrung gezwungen, die jeweiligen Ergebnisse einer Versuchsreihe mit einer gewissen Reserve zu beurteilen, und es wird nicht ohne weiteres ein erhaltenes Resultat die Unrichtigkeit eines davon abweichenden beweisen können. Vor allem aber wird es notwendig sein, die Methodologie so zu gestalten, daß sie der so ausgesprochenen Kompensations-, ja sogar Überkompensationsfähigkeit gegenüber den ausfallenden Milzfunktionen Rechnung trägt, indem zweckgemäße, neue biologische Aufgaben dem Organismus gestellt werden. Es ist ja dies ein Verfahren, welches sich auch anderwärts in etwas ähnlichen Lagen bewährt hat, z. B. bei dem Nachweis des Funktionsausfalles der Nebennieren von Ratten durch *Asher* und *Mauerhofer*, und zwar bei solchen Ratten, die anscheinend symptomlos den Ausfall der Nebenniere vertragen. Auf anderen Gebieten der Physiologie, z. B. derjenigen des Herzens, des Zentralnervensystems, ist die Kompensationsfähigkeit so gut bekannt, daß es nur des Hinweises bedarf.

Alle hier genannten Schwierigkeiten treffen auf alle bis jetzt behaupteten Funktionen der Milz zu, so auch auf die von dem Anteil der Milz am Eisenstoffwechsel. Nachdem in den ersten Arbeiten des Berner physiologischen Instituts auf Grund der experimentellen Beobachtungen die Lehre aufgestellt worden war, daß die Milz unter anderem ein Organ des Eisenstoffwechsels sei, und Bedingungen gefunden worden waren, unter denen sich durch eine gesteigerte Eisenausscheidung im Kot der Ausfall der Milz kundtat, wurden dieser Lehre durch die Befunde einiger Autoren Bestätigungen zuteil, während andere Beobachter auf Grund ihrer Erfahrungen eine Beteiligung der Milz am Eisenstoffwechsel ablehnten. Spätere Arbeiten des Berner physiologischen Instituts, so z. B. diejenigen von *Nakayama*[1]), zogen in schärferer Weise als früher die Regulationsmechanismen in Betracht und gelangten zu dem Ergebnis, daß die Größe der Eisenausscheidung nach der Milzexstirpation nicht bloß von dem Fehlen des unter normalen Bedingungen spielenden Anteils der Milz am Eisenstoffwechsel abhänge, sondern mitbestimmt werde von dem jeweiligen Stande der kompensatorischen Regulationsmechanismen.

Durch eine erneute Untersuchung, womöglich mit neuer Methodik, die Frage des Anteils der Milz am Eisenstoffwechsel in Angriff zu nehmen, lag Veranlassung vor, weil aus jüngster Zeit neue Beobachtungen mitgeteilt worden sind, welche teils wegen Nichtvermehrung der Eisen-

[1]) *Nakayama*, diese Zeitschr. **151**, 119, 1924.

ausscheidung nach Milzexstirpation der Milz die Rolle als ein Organ des Eisenstoffwechsels absprechen, teils die tatsächlich beobachteten Veränderungen im Eisenstoffwechsel auf eine andere Ursache zurückführen.

Die erstgenannten Beobachtungen sind diejenigen von *Irger*[1]), welcher anläßlich einer Untersuchung zur Frage des Eisenstoffwechsels im tierischen Organismus nach der Milzexstirpation bei der Untersuchung des ausgeschiedenen Kotes — diese Versuchsreihe soll allein, weil mit dem vorliegenden Problem im engeren Zusammenhang, erörtert werden — nach der Milzexstirpation auffallenderweise sogar eine erheblich geringere Eisenausscheidung fand als vor der Milzexstirpation. Diese Befunde sind einigermaßen auffallend, weil sie im Widerspruch mit der Mehrzahl der vorliegenden Beobachtungen stehen. Selbst *Pearce, Krumbhaar* und *Frazier*[2]), welche nicht Anhänger der Lehre von der Milz als eines Organs des Eisenstoffwechsels sind, haben bei der Untersuchung von vier Hunden, vor und nach Splenektomie, bei drei Hunden Konstanz der Eisenausscheidung und bei einem Hunde 10 Tage nach der Milzexstirpation eine Erhöhung der Eisenausscheidung um 21 Proz., nach 3 Monaten jedoch von 148 Proz. mitgeteilt. In keinem ihrer Versuche demnach irgend eine Ähnlichkeit mit den *Irger*schen Befunden. Es fragt sich, ob sich aus den Bedingungen der *Irger*schen Versuche Anhaltspunkte finden, weshalb er weder die von einer ganzen Anzahl von Autoren beobachteten Steigerungen der Eisenausscheidung, noch das von anderen Autoren angegebene Gleichbleiben der Eisenausscheidung sah. Was die analytischen Methoden anbelangt, so sind Angaben über die Resultate von Blindversuchen nicht mitgeteilt. Bei der außerordentlich großen Schwierigkeit, selbst bei garantierten Reagenzien äußerst eisenarme Präparate und Lösungsmittel zu erhalten, ist bei jeder einzelnen Versuchsreihe zur Kontrolle die Anstellung von Blindversuchen erforderlich, ein Verfahren, welches bei den einschlägigen Arbeiten des Berner physiologischen Instituts stets geübt wird. Sollten in der Zeit vor und nach der Milzexstirpation das Stammaterial von Reagenzien und Lösungsmitteln nicht das gleiche gewesen sein bzw. bei Wechsel keine neuen Blindanalysen angestellt worden sein, so könnte sich daraus teilweise der Unterschied in den Eisenmengen vor und nach der Milzexstirpation erklären. Doch sei mit diesen Bemerkungen keineswegs behauptet, daß sie für die besprochenen Versuche zutreffen. Etwas sicherer kann man sich über einen biologischen Faktor der *Irger*schen Versuche äußern. *Irger* gibt an, daß seine beiden Ver-

---

[1]) *J. Irger*, diese Zeitschr. **169**, 417, 1926.

[2]) *Pearce, Krumbhaar* und *Frazier*, The Spleen and Anemia. Philadelphia und London, I. B. Lipingcote Co., 1917.

suche an zwei Hündinnen angestellt wurden. Nun liegen, ganz abgesehen von dem Problem der Milzfunktion, Anhaltspunkte vor, daß bei weiblichen Tieren der Eisenstoffwechsel über andere Regulationsmittel verfügt als bei männlichen. In der Arbeit von *Nakayama* (l. c.) war es gerade das weibliche Tier, bei welchem zwar nicht eine Minderausscheidung von Eisen, aber doch, praktisch gesprochen, kein wesentlicher Unterschied in der Größe der Eisenausscheidung im Kot vor und nach der Milzexstirpation sich fand. Beim männlichen Tiere hingegen war in *Nakayamas* Untersuchungen die Eisenausscheidung nach der Entmilzung erheblich größer als vorher, und die Richtigkeit seiner Befunde wurde noch dadurch gesichert, daß die Größe der Eisenausscheidung genau der zurzeit bestehenden Ernährungsart entsprach. *Nakayama* wies auch auf die biologischen Gesichtspunkte hin, welche die Unterschiede in den Beobachtungen zu erklären vermochten. Solche positive Befunde, wie die von *Nakayama* mitgeteilten, sowie auch die früheren, dürften unter den hier obwaltenden Bedingungen schon aus methodologischen Gründen den Sachverhalt richtiger wiedergeben, als selbst im übrigen keinen erheblichen Einwänden ausgesetzte Versuchsreihen mit negativen Ergebnissen.

Einen neuen interessanten und sehr zu beachtenden Gesichtspunkt tragen in die Diskussion des Milzproblems die Arbeiten von *Lauda*[1]), welcher bei Ratten mit Hilfe histochemischer Methoden nach der Milzexstirpation zwar die Erscheinungen des gesteigerten Verlustes von Eisen beobachtete, sie aber nicht durch den Ausfall einer eisenerhaltenden und regulierenden Funktion der Milz erklärte, sondern als Folge einer, allerdings nur nach Entmilzung auftretenden perniziösen Anämie. Er bringt auch hier nicht weiter zu diskutierende Gründe für die infektiöse Natur dieser Anämieform bei, wobei immerhin die Bedeutung der Milz insofern hervortritt, als gerade nur nach ihrer Entfernung diese schwere Erkrankung auftreten soll.

Angesichts der *Lauda*schen Befunde stellt sich daher die Aufgabe, zu untersuchen, ob wirklich die Symptome, welche nach Milzexstirpation auftreten, keinen Beweis für die Funktion der Milz im Eisenstoffwechsel bilden, oder ob gewissermaßen durch ein Spiel der Natur die *Lauda*schen Befunde eine richtige, aber nur zufällige Parallelerscheinung darstellen, die den wahren Sachverhalt verdeckt. Es galt daher bei einer anderen Tierart als der Ratte mit zuverlässigen Methoden das Verhalten des Eisenstoffwechsels vor und nach der Milzexstirpation zu prüfen und gleichzeitig genau auf das Eintreten oder Nichteintreten von Anämie zu achten. Über die Resultate dieser Prüfung berichte

[1]) *E. Lauda*, Klin. Wochenschr. **4**, 1587, 1925; Wien. Arch. f. innere Med. **11**, 293, 1925; Virchows Arch. **258**, 529, 1925.

ich nachfolgend; dieselbe hat zu einem entscheidenden, die Lehre von der Funktion der Milz als eines Organs der Eisenstoffwechsels bestätigenden Ergebnis geführt.

Das zur Untersuchung verwandte Tier war das Meerschweinchen, ein Tier, welches aus mehrfachen Gründen schon zur Untersuchung der Milzfunktion herangezogen worden ist. Um den Eisenstoffwechsel dieses Tieres zu untersuchen, wurde dieselbe Methode angewandt, deren sich in einer voraufgehenden Arbeit *Tominaga*[1]) bedient hat, nämlich die chemische Analyse vornehmlich der Leber vor und nach der Milzexstirpation, weil am Eisengehalt der Leber vor allem sich herausstellen würde, ob das Vorhandensein oder das Nichtvorhandensein der Milz einen Einfluß auf den Eisenstoffwechsel besäße. Voraussetzung bei dem Gedankengang der Methode wäre natürlich, daß keine Anämie infolge der Milzexstirpation eintritt, was leicht durch Hämoglobinbestimmung feststellbar ist. Die Analyse muß auch hier wie in *Tominagas* Arbeit eine mikrochemische sein, und ich benutzte, wie *Tominaga*, die ungemein genaue Methode von *Kugelmass*[2]).

Operationsmethodik.

Die Tiere wurden mit 1 ccm 1proz. Morphiumlösung subkutan narkotisiert. Die Narkose ist tief und genügt vollständig zur Ausführung der Operation. Hautschnitt in der Mittellinie, darauf Bauchschnitt in der Linea alba und vorsichtiges Eröffnen des Peritoneums. Man zieht jetzt sanft den Magen aus der Bauchhöhle heraus, sorgt aber dafür, daß die Därme nicht mitgenommen werden. Die Milz kommt dann immer ganz zum Vorschein. Die Entfernung der Milz sowie die Bauchfell-, Bauchwand- und Hautnaht werden in der üblichen Weise unter aseptischen Kautelen ausgeführt. Es wurden ausschließlich männliche Tiere verwandt.

Methode der Durchspülung und Vorbereitung der zu untersuchenden Organe für Eisenanalyse.

Die Verblutung der Tiere geschah durch Köpfen. Das Blut wurde geschlagen und sofort auf Hämoglobingehalt mittels des *Sahli*schen Hämometers untersucht. Inzwischen wurde der Thorax eröffnet und in die freigelegte Brustaorta eine Kanüle nicht weit vom Zwerchfell eingeführt, fixiert. Ich verband diese Kanüle luftfrei mittels eines Schlauches mit einer *Mariotte*schen Flasche und ließ die Flüssigkeit von der Aorta aus alle Organe passieren. Als Durchspülungsflüssigkeit diente warme, 37 bis 40°, reine 0,9proz. NaCl-Lösung. Das benutzte NaCl war *Merck*sches „pro Analyse" und wurde in mehrfach aus Glas überdestilliertem Wasser gelöst. In die Vena cava inf. führte ich in der Nähe des Herzens eine Abflußkanüle ein, die noch mit einem kurzen Schlauch versehen war.

---

[1]) *Y. Tominaga*, diese Zeitschr. **156**, 418, 1925.
[2]) *M. I. Kugelmass*, Extrait du bull. de la Soc. de Chim. Biol. IV, 577, 1922.

Die Durchspülung dauerte ungefähr 3 Stunden; die durchspülte Flüssigkeitsmenge betrug 3 Liter. Am Ende soll die Farbe der Leber und der Nieren eine blasse sein und keinen roten Ton mehr erkennen lassen. Nach der Durchspülung präparierte ich die Leber und die beiden Nieren heraus und wusch sie eine Zeitlang in warmer, 0,9proz. Kochsalzlösung aus, worauf ich sie mit Filtrierpapier abtrocknete. Hierauf wurde die Leber in eine, die beiden Nieren in eine andere Porzellanschale gebracht und die Organe in einem Mörser zu einer breiartigen Masse verrieben. Dann erfolgte ein nochmaliges Trocknen mit Filtrierpapier. Zur Analyse wurden 0,2 g genau abgewogen. Ich habe peinlich darauf geachtet, daß die Durchspülung wie die Vorbereitung der Organe zur Analyse in genau der gleichen Weise bei allen Tieren durchgeführt wurden. Alle Tiere erhielten die gleiche Nahrung und waren, wie schon hervorgehoben wurde, ausnahmslos männlichen Geschlechts.

Eisenanalyse.

Die Eisenanalyse wurde nach dem Verfahren von *Kugelmass* ausgeführt. Im wesentlichen ist dieselbe in der oben erwähnten Arbeit von *Tominaga* beschrieben. Ich kann daher auf die Arbeiten von *Kugelmass* und *Tominaga* (siehe oben) diesbezüglich verweisen und möchte nur an dieser Stelle einige Punkte hervorheben, welche mir für das Gelingen der Analyse von einiger Bedeutung zu sein scheinen.

1. Die Substanzen zur Herstellung der Reagenzien müssen eisenfrei sein, Reagenzien von *Merck*, reinste „pro Analyse". Das zur Verwendung kommende Wasser darf nur frisch aus Jenaer Glas redestilliertes sein.

2. Die Zeitdauer der Leberveraschung und die Stärke der Flamme soll bei allen Versuchen möglichst gleich sein. Das gleiche gilt auch für die Nierenveraschung. Hierzu verhilft unter anderem, daß man das breiige Gewebe immer in gleicher Weise auf dem Boden des Quarztiegels ausbreitet.

3. Das Kochen der Asche mit Salzsäure und Perhydrol soll so lange ausgeführt werden, bis die Entwicklung des Sauerstoffs vollständig ist. Weiteres Kochen soll vermieden werden, da sonst ein Teil der Salzsäure verdampft und damit die Eisen- sowie Wasserstoffionenkonzentration in unbekannter Weise verändert wird.

4. Es wurden immer Doppelanalysen ausgeführt, die nur wenig voneinander abwichen. Die in der Tabelle angegebenen Zahlen stellen die Mittelwerte der Doppelanalysen dar.

5. Jeder Ausführung der eigentlichen Versuchsanalyse folgen zur Kontrolle eine Blindanalyse und zwei Analysen mit bekannten Eisenmengen. In das eine Quarztiegelchen werden 0,2 ccm = 0,02 mg Eisen, in das zweite 0,1 ccm = 0,01 mg Eisen der Eisenstammlösung, in das dritte 0,2 ccm frisch redestilliertes Wasser gebracht. Mit allen drei Proben wird in genau der gleichen Weise mit genau den gleichen Zusätzen die Analyse ausgeführt, wie in den Hauptversuchen mit den Organstückchen.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen bringe ich in der nachfolgenden Tabelle, in welcher unter A die Werte enthalten sind, welche an drei normalen Meerschweinchen, alle männlich, gefunden wurden. Der Mittelwert des Eisengehalts in Milligrammen pro 1 g Lebersubstanz betrug 0,0563 mg, der Eisengehalt pro 1 g Nierensubstanz 0,065.

Versuch Nr.	Datum	Gewicht des Tieres g	Hb-Gehalt des geschlagenen Blutes in Hämometerzahlen nach *Sahli*	Eisengehalt pro 1 g Lebersubstanz mg	Eisengehalt pro 1 g Nierensubstanz mg	Bemerkungen
			A. Normale Meerschweinchen (alle männlich).			
1	4. Mai	650	—	0,053	0,061	
3	11. „	445	86	0,046	0,042	
4	13. „	640	93	0,070	0,065	
		Mittelwerte:		0,0563	0,056	
			B. Milzlose Meerschweinchen (alles männliche Tiere).			
2	7. Mai	410	89	0,0875	0,05	3 Tage nach Operation
5	21. „	500	93	0,0925	0,06	3 „ „ „
6	25. „	330	—	0,0975	—	13 „ „ „ *)
7	29. „	380	90	0,0825	0,065	3 „ „ „
		Mittelwerte:		0,0900	0,058	

*) Das Tier ist aus unbekannten Gründen gestorben, die Sektion ergab nichts Besonderes.

	Lebergewebe	Nierengewebe
Prozentische Zunahme (+) oder Abnahme (—) des Eisengehaltes nach Milzexstirpation . . .	+ 60	+ 4

In Tabelle B bringe ich die an milzlosen Meerschweinchen, gleichfalls alle männlich, erhaltenen Werte. Das hervorstechendste Resultat ist, daß in allen Fällen der Eisengehalt der Leber größer ist als bei normalen Tieren. Er beträgt durchschnittlich 0,09 mg pro 1 g Leber. Hingegen ist der Eisengehalt der Niere praktisch gleich, nämlich 0,058. Die prozentische Zunahme des Eisengehalts der Leber infolge des Fehlens der Milz beträgt nicht weniger als 60 Proz. Angesichts der Tatsache, daß die Leber ein wesentlich größeres Organ als die Milz ist, besagt dieser Wert, daß die Leber eine ganz erhebliche Kompensationsarbeit in der Aufstapelung von Eisen an Stelle der fehlenden Milz leistet. Um das Bild zu vervollständigen, habe ich Hämoglobinbestimmungen ausgeführt, und man sieht in Tabelle B, daß bei keinem der milzlosen Meerschweinchen die geringste Spur von Anämie aufgetreten ist. Also hat die Steigerung des Eisengehalts der Leber nichts mit einem anämischen, erhöhten Zerfall von roten Blutkörperchen zu tun. Es ist vielleicht möglich, daß, wäre es zu einem solchen gekommen, in der Niere ein Unterschied zwischen normalen und milzlosen Tieren zur Beobachtung gekommen wäre. Noch ein anderer Punkt verdient besonderer Hervorhebung. In einem Falle habe ich schon 3 Tage nach der Milzexstirpation die Eisenbestimmung durchgeführt und schon nach dieser kurzen Frist den gesteigerten Eisengehalt der Leber nach-

weisen können. Demnach setzt die Kompensationsleistung der Leber in sehr kurzer Zeit ein.

Die mitgeteilten Ergebnisse sind entscheidende neue Beweise für die Lehre von *Asher*, daß die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels sei, und daß andererseits sehr rasch Kompensationsfunktionen eintreten. Meine Befunde haben nichts mit Anämie zu tun, sie sind trotz normalen Hämoglobingehalts zum Vorschein gekommen. Im Gegenteil ergibt sich aus meiner Beobachtungsreihe, daß die interessanten *Lauda*schen Befunde, soweit sie, was nicht bezweifelt werden soll, zutreffend sind, zufällige Parallelerscheinungen an gewissen Ratten sind, die, wenn sie vorkommen, das wesentliche am Sachverhalt verdeckten. In meinen Versuchen an Meerschweinchen bestand diese Verdeckungsgefahr nicht. Die Ergebnisse meiner Versuche lehren auch, daß es nicht berechtigt sein dürfte, auf Grund von negativen Ergebnissen den Anteil der Milz am Eisenstoffwechsel abzulehnen. Für diese Funktion, wie übrigens für manche andere, bestehen eben so große Kompensationsmöglichkeiten, daß nur derjenige ein richtiges Bild der Milzfunktion erhalten wird, dessen Methodik die Kompensationsmöglichkeiten reduziert, oder wo, aus nicht immer angebbaren Gründen, die Kompensationsmöglichkeiten nicht die Oberhand gewinnen.

Zusammengefaßt sind die wesentlichen Ergebnisse meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Es werden die Kautelen angegeben, welche bei Anwendung der *Kugelmass*schen Mikromethode der Eisenbestimmung angewandt werden müssen, um exakte Werte zu erhalten.

2. Bei milzlosen Meerschweinchen fand sich durchschnittlich eine 60proz. Steigerung des Eisengehalts der Leber gegenüber der Norm. Keines der milzlosen Tiere war anämisch. Die Steigerung tritt schon nach 3 Tagen ein.

3. Diese Tatsachen lehren von neuem, daß einerseits die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels ist, und daß andererseits sehr rasch eine Kompensationsleistung der Leber eintritt. Die Nichtberücksichtigung der Kompensationsmöglichkeiten führt zur Verkennung dieser und anderer Milzfunktionen.

Beiträge zur Hylergographie.

(Über die Wirkung von Salzen, namentlich Neutralsalzen, auf die Zelle).

Von

Friedrich Boas.

(Aus dem Botanischen Institut der Hochschule für Landwirtschaft und Brauerei in Weihenstephan.)

(Eingegangen am 2. Juli 1926.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

Frühere Arbeiten über die Wirkung von Salzen auf die Zelle und auf Zellbestandteile führten bereits zur Aufstellung von Anionen- und Kationenreihen. Diese Reihen waren aber meist bei Plamolysestudien gewonnen, so daß man hier von *statischen Ionenreihen* sprechen kann. Ich verweise auf die Versuche von *Fitting* (1), sowie auf die ausgedehnten Studien von *Kahho* (2). *Walters* (3) Reihen beziehen sich auf Quellversuche. Schließlich seien auch noch die Arbeiten von *Katz* (4) und die allgemeine Übersicht über die hier angeschnittene Frage bei *Höber* (5) erwähnt.

Meine Versuche behandeln namentlich die *Wirkung von Neutralsalzen auf arbeitende Zellen*, und zwar entweder auf *gärende Hefe* oder auf *wachsende Zellen*. Im ersten Falle kommt also ein im Brennpunkte der Zelltätigkeit stehender Zellvorgang, das Gärungsphänomen, ein wichtiger Ausschnitt aus dem Kohlehydratumsatz, zur Untersuchung; im zweiten Falle handelt es sich um die Salzbeeinflussung der Gesamtleistung der Zelle. Die aus diesen Untersuchungen sich ergebenden Ionenreihen können als *dynamische* den statischen der vorgenannten Forscher gegenübergestellt werden. Daß es sich bei dieser Arbeit natürlich nicht um die Aufstellung von Ionenreihen als Selbstzweck handelt, braucht nicht betont zu werden. Die Ionenreihen gestatten einmal eine abgekürzte Verständigungsweise. Sodann führt die Deutung der Ionenreihen zu einer Erkenntnis des Zustandes und der Arbeitsweise der Zelle. Darin liegt der Wert der Aufsuchung von Ionenreihen für die chemische und kolloidchemische Erkenntnis der Eigenart einzelner Zellarten und einzelner Stämme des Pflanzenreiches; ebenso aber auch für die Analyse wichtiger Zellvorgänge.

Ein gutes Hilfsmittel für die kolloidchemische Erforschung der Zelle, besonders für eine dynamische Analyse, haben wir in der *Wirkung*

der Salze auf die arbeitende Zelle vor uns. Diese Salzmethodik findet eine Erweiterung und Ergänzung durch das Studium der Wirkung der Saponine und Gallensalze. Denn gerade die Kombination der Salzwirkung mit der der Saponine und Gallensalze deckt weitere erhebliche Unterschiede in der Struktur der einzelnen Zellen auf. Infolgedessen behandle ich hier die Wirkung einiger Salze, besonders die Wirkung der Neutralsalze der Alkalien, sodann die Wirkung von Gallensalzen in Kombination mit anderen Salzen und weiter weniger ausgedehnt die von Saponinen auf die arbeitende Zelle. Da es sich hier nicht um einen Beitrag zur *physikalischen Chemie der Zelle und der Gewebe* handelt, sondern um das Studium und um die *Beeinflussung der Leistung der Zelle*, sowie um die Darstellung einiger einfacher Methoden zur Erschließung der Wechselbeziehung zwischen *Zelle* und den auf sie einwirkenden Stoffen, der *Hyle*, so bezeichne ich diese bescheidenen Versuche als Beiträge zur *Hylergographie*. Die Hylergographie stellt die Lehre der Wirkung der Hyle auf die Zelle zum Zwecke der Kenntnis der Zellvorgänge dar. Es soll damit ein dynamischer Ausblick angedeutet sein. Physikalische Chemie dagegen ist eine mehr statische Bezeichnung, daher halte ich den Ausdruck Hylergographie für besser.

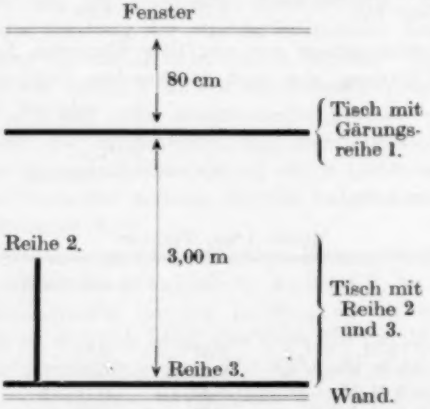
Ich gehe nun zur Darstellung bezeichnender Gärungsversuche über und bringe zuerst einen kurzen Hinweis auf die Methodik.

Die Gärung wurde in Jenaer Erlenmeyerkolben von 100 ccm Inhalt durchgeführt. Die Kolben wurden auf Gleichartigkeit geprüft, um durch das Glas bedingte Unterschiede, wie sie z. B. *Lappaleinen* (6) bei Aspergillus niger angibt, möglichst zu beseitigen. Die Gärmenge betrug gewöhnlich 50, in einigen Fällen 60 ccm. Es wurden immer 3 g Würfelzucker vergoren. Die bei der Wägung der CO_2 auftretende Fehlergröße überschritt nicht 20 mg. Die Gärung verlief bei Zimmertemperatur, am Tage wurde nicht abgedunkelt, doch standen die Kolben so, daß die diffuse Belichtung die Kolben gleichmäßig traf. Verwendet wurden immer 10 ccm frischer, dickbreiiger, gewaschener Brauereiunterhefe. Das Lufttrockengewicht der verwendeten Hefe (in ganz dünner Schicht getrocknet) betrug zwischen 0,6 und 0,7 g.

Außer dem an sich bedeutungslosen *Wägefehler* kommen noch andere, weniger leicht auszuschaltende Fehler in Betracht. Der chemische und physikalische Zustand der Hefe ist immer schwankend, da ja je nach Alter der Hefe der Eiweiß-, Fett- (Lipoid-) und Kohlehydrat- (Glykogen-) Gehalt in ziemlich großen Grenzen wechselt. Es kann sehr leicht sein, daß mit sinkendem Eiweißgehalt der Lipoidreichtun der Zelle physikalisch in den Vordergrund tritt, damit ändert sich aber die Kolloidstruktur und für die Salze der Angriffspunkt. Ein weiterer Fehler liegt im *Zeitfaktor*. Die Durcharbeitung einer größeren Reihe von Versuchen erfordert viel Zeit; wenn man nun nicht rasch genug arbeitet, erhält man naturgemäß verschieden lange Einwirkungszeiten der zu untersuchenden Stoffe auf die Zelle bis zum Beginn der ersten Wägung oder Messung. Doch ist dieser Fehler nur gering und durch Übung leicht auszuschalten. Wichtiger ist ein zweiter

Zeitfehler. Wenn nämlich die Hefe im Stadium starker Gärung ist, müssen die Reihenwägungen mit Beschleunigung ausgeführt werden, damit im Laufe der Wägung nicht durch die Intensität der Gärung eine Verschiebung der tatsächlichen Verhältnisse eintritt. Dieser Fehler wurde in vielen Fällen durch Nachkontrolle, in der Hauptsache aber durch Arbeitsteilung vermieden. An dieser Stelle möchte ich meinen Mitarbeitern, den Herren Dr. *G. Claus* und Dr. *H. O. Diener* für ihre Mitwirkung bei den Gärungsversuchen bestens danken.

Da die Versuche nicht in einem Dunkelraum standen, so waren sie der *Wirkung von Licht und Dunkelheit* ausgesetzt. Die Feststellung der Werte der ersten 8 bis 10 Stunden erfolgte unter Lichteinfluß; die Zeit bis zur nächsten Wägung (20 bis 24 Stunden) bedeutet Dunkelheit. Die Kolben standen fast immer 3,90 m vom Fenster entfernt an der Wand. Daß das Licht einen großen Einfluß auf die Leistung der gärenden Zelle und auf die Permeabilität hat, möchte ich an folgendem Versuch nachweisen. Die Anordnung des Versuchs ergibt sich aus folgendem Schema:



Es wurden gleichzeitig drei Versuche mit Neutralsalzen durchgeführt:

Reihe 1 stand 80 cm vom Fenster entfernt parallel zum Fenster.
„ 3 stand 3,80 m vom Fenster entfernt parallel zum Fenster.
„ 2 stand senkrecht zum Fenster, aber sonst unter den Bedingungen der Reihe 3.

Versuch 1. Wirkung des Lichtes[1]*) bei Gegenwart von n/5 Ammonsalz.*

Schema der Durchführung aller Gärversuche. 10 ccm Hefe, 10 ccm H_2O, 10 ccm n Neutralsalz, 20 ccm 15proz. Rohrzucker- (Würfelzucker-) Lösung. Diese Reihenfolge der Zugabe der einzelnen Bestandteile des Gärungsversuchs wurde immer, um gleichmäßiges Arbeiten zu erzielen, eingehalten. Das Volumen der Gesamtflüssigkeit ist also, wo nichts anderes angegeben, 50 ccm.

[1]) Die bei *Lafar* 5, 443, 1905 angegebenen Lichtversuche stehen in keiner Beziehung zu den hier erwähnten Untersuchungen.

Neben der Bestimmung der entwickelten Kohlendioxydmenge wurde in der Gärlösung auch das Auftreten von ninhydrinaktiven Körpern festgestellt; die Blaufärbung mit Ninhydrin deutet wohl auf eine mehr oder minder starke Permeabilitätserhöhung hin. Auf die Beziehung zwischen Stärke der Ninhydrinreaktion und der Gärung komme ich weiter unten noch öfter zurück (Versuche 8 und 11).

Reihe 3 an der Wand parallel zum Fenster. Es wurden entwickelt:

Nr.		g CO_2 nach Stunden		
		5	9	24
1	n/5 $(NH_4)_2SO_4$.	0,42	0,75	1,58
2	n/5 NH_4NO_3 . .	0,28	0,57	1,56
3	n/5 NH_4Cl . . .	0,26	0,55	1,56
4	n/5 NH_4SCN. .	0,16	0,36	1,51
5	Ohne Salz . . .	0,18	0,40	1,48

Die Ninhydrinreaktion der sorgfältig filtrierten Lösungen ergab am Schluß der Gärung, also nach 24 Stunden, folgendes Bild:

SO_4	+	schwach blau
NO_3	(+)	etwas schwächer
Cl	0	
SCN	+++	tiefblau
Salzfreie Probe	0	

Reihe 1 am Fenster.

Nr.		g CO_2 nach Stunden		
		5	9	24
6	n/5 $(NH_4)_2SO_4$.	0,52	0,81	1,58
7	n/5 NH_4NO_3 . .	0,43	0,72	1,56
8	n/5 NH_4Cl . . .	0,45	0,72	1,57
9	n/5 NH_4SCN .	0,38	0,65	1,59
10	Salzfreie Probe .	0,25	0,55	1,48

Ninhydrinprobe nach Schluß der Gärung:

SO_4	+	
NO_3	(+)	
Cl	0	
SCN	+++	tiefblau
Salzfreie Probe	0	

Reihe 2 an der Wand (wie 3, aber quer gestellt).

Nr.		g CO_2 nach Stunden		
		5	9	24
11	n/5 $(NH_4)_2SO_4$.	0,44	0,77	1,65
12	n/5 NH_4NO_3 . .	0,36	0,66	1,57
13	n/5 NH_4Cl . . .	0,33	0,62	1,59
14	n/5 NH_4SCN .	0,19	0,46	1,54
15	Salzfreie Probe .	0,20	0,41	1,47

Die Ninhydrinprobe ergab:

SO_4	+	ganz schwach blau
NO_3	+	„ „ „
Cl	0	
SCN	+++	tiefblau
Salzfreie Probe	0	

In allen drei Fällen finden wir:

1. Die Anionenreihe lautet unabhängig von der Aufstellung, d. h. unabhängig vom Licht:

$$SCN < Cl < NO_3 < SO_4 \xrightarrow[\text{Zunahme der Gärung}]{}$$

Diese Reihe stimmt gut mit alten Versuchen von mir [*Boas* (7)] überein.

2. Der Lichteinfluß auf die Leistung der Zelle ist erheblich, kann aber die Anordnung der Ionenreihen nicht ändern. In der salzfreien Probe steigt die Leistung der stärker belichteten Zelle um 20 Proz. (nach 5 Stunden) und um 37 Proz. nach 9 Stunden. Die geringe Lichtdifferenz zwischen Reihe 2 und 3 ist belanglos; die beiden salzfreien Proben stimmen völlig untereinander überein.

Licht erhöht die Permeabilität und damit deutlich die Leistung der Zelle. Die Permeabilitätserhöhung durch Licht steht in Übereinstimmung mit Versuchen anderer Autoren an ganz anderen Objekten [*Tröndle* (8), *Brauner* (8a)].

Die erhöhte Leistung bei erhöhter Permeabilität ist auch bei Gegenwart von Neutralsalzen deutlich. In Reihe 3, Nr. 1, und Reihe 1, Nr. 6 steht Ammonsulfat mit der Leistung an der Spitze, die Ninhydrinreaktion ist deutlich, zeigt also vermutlich einen gewissen Grad der Permeabilitätserhöhung an. Die Leistung sinkt erkennbar bei Nr. 2 und 3; in demselben Grade sinkt etwa die Ninhydrinreaktion. *Sowie aber ein gewisses Maß der Permeabilitätserhöhung erreicht ist, tritt ein Umschwung der Leistung ein; dann sind Leistung und Permeabilitätserhöhung streng gegenläufige Erscheinungen.*

3. Die Leistung der Zelle *sinkt* dann bei Salzgegenwart und bei stark erhöhter Permeabilität, wenn durch chemische und kolloidchemische Eingriffe der Salze der Eiweißstoffwechsel (und vermutlich auch andere Vorgänge) wesentlich geändert werden. Diesen Eingriff in das Zellgefüge deckt die Ninhydrinreaktion auf. Eine intensive *Erhöhung der Permeabilität* und eine *gleichzeitige* Störung des Zellbetriebes bewirkt das *Rhodan*ion. Hier entspricht einer stark erhöhten Permeabilität und einer erhöhten Salzwirkung ein bedeutender Leistungsabfall der Zelle.

Man kann also, je nach dem Grade der Kolloidbeeinflussung, bei Salzgegenwart bei *mäßig erhöhter Permeabilität* (man vergleiche die Ninhydrinreaktion der Sulfatproben in Versuch 1) eine *Leistungs-*

steigerung, bei *stark erhöhter Permeabilität eine bedeutende Leistungshemmung der Zelle* erzielen. Bei Gegenwart von Salzen in stärkerer Konzentration entspricht eine starke Permeabilitätserhöhung einer bedeutenden Schädigung der Zelle. Das wird sich weiter unten noch öfter zeigen.

Übersicht über die Salzwirkung auf die Hefegärung.

Bereits im Jahre 1921 habe ich mitgeteilt, daß sich bei Verwendung von Ammonsalzen in einer Konzentration von n/5 folgende Anionenreihe im Sinne einer steigenden Förderung der Gärung aufstellen läßt.

$$\underrightarrow{SCN < NO_3 < Cl < SO_4}$$
Zunahme der Gärung

Es steht also das zweiwertige Sulfat dem einwertigen SCN gegenüber. Ähnliche Reihen finden wir z. B. bei Verwendung von Natriumsalzen. So wurde bei Gegenwart von n/5 Natriumsalz folgende Reihe erhalten:

$$\underrightarrow{SCN < Cl < NO_3 < SO_4 < Br}$$

und bei einer Konzentration von n/20:

$$\underrightarrow{Cl < SCN < NO_3 < SO_4 < Br}$$

Hier hat nur Cl seinen Platz vertauscht. Bei Verwendung von Kaliumsalzen wurden ähnliche Reihen erzielt.

Ändert man durch Saponine bzw. gallensaure Salze (glycocholsaures Natrium) die *normale Permeabilität erheblich, so bleiben die Reihen in der Hauptsache dieselben.* So wurde z. B. bei Gegenwart von Sapotoxin mit Natriumsalzen folgende Reihe erhalten:

$$\underrightarrow{SCN < NO < Cl < SO_4}$$ (Versuch 8 Nr. 15 bis 18)

und bei Gegenwart von 0,5 proz. glykocholsaurem Natrium (Versuch 8, Nr. 6 bis 9) trat die Reihe

$$\underrightarrow{SCN + Cl < NO_3 < SO_4}$$

auf. Auch in einer mit Phosphat gepufferten Reihe ergaben Ammonsalze in n/6 Konzentration mit einer p_H-Breite von 6,20 bis etwa 4,00 folgende Reihe:

$$\underrightarrow{(SCN, Cl) < NO_3 < SO_4 < Br}$$ (Anfangsgärung $2^1/_2$ Stdn. Versuch 11)

Genau dieselbe Reihe wurde bei Pufferung mit Glykokoll-Salzsäure erzielt. Hier blieb (in Versuch 12) innerhalb 24 Stunden die Wasserstoffionenkonzentration konstant zwischen p_H 3,50 bis 3,40 stehen. Die mit n/6 Natriumsalzen erhaltene Reihe lautete:

$$\underrightarrow{Cl < SCN < NO_3 < Br < SO_4}$$ (Versuch 12)

Man findet also bei konstantem p_H (3,50 bis 3,40) und bei wechselndem p_H (Änderung von 6,20 auf etwa 4,00 im Verlauf der Gärung dieselbe Reihe.

Ebenso findet man zum Teil mit großer Konstanz den Gegensatz $SO_4 > SCN$, und zwar in einem Konzentrationsintervall zwischen n/3 bis n/50 Neutralsalz.

Diese Reihe läßt sich nun sehr leicht ganz oder doch zum großen Teil umdrehen, d. h. in eine Gegenreihe verwandeln. In diesem Sinne ändert sich dann auch, der geänderten Stellung der Ionen entsprechend, die Leistung der Zelle.

Die Gegenreihe

$$\xrightarrow{SO_4 < Br < NO_3 < SCN,}$$

wo also Rhodan die Gärung am meisten fördert, finden wir in Versuch 13 (Pufferung mit Glykokoll NaOH; p_H-Intervall während der Gärung zwischen etwa 5,20 bis 3,80). Auch durch andere Eingriffe lassen sich die Reihen herumdrehen. Man vergleiche die Versuche 6 und 7 sowie die mit Phosphatpufferung durchgeführten Gallensalzversuche 14 und 15.

Für diese Umkehrung der Reihenfolge $SO_4 > SCN$ in $SCN > SO_4$ haben wir auch bei kolloidchemischen Vorgängen Parallelen. Ich verweise auf *Höber* (5) und auf die neueste Arbeit aus dem *Höber*schen Institut von *Goldenberg* (9). *Goldenberg* gibt z. B. auf S. 340 seiner Arbeit an, daß die Reihenfolge der Ionen bei p_H 4,25 lautet:

1. $>0{,}1$ mol. $SO_4 > Cl > NO_3 > Br$

und

2. $>0{,}5$ mol. $SO_4 > Cl > Br > NO_3$.

Hier ist also bei gleichem p_H ausschließlich durch die Änderung der Konzentrationen die Wirkung der Anionen völlig nach der Gegenseite verschoben. Auch bei der Hefengärung kann man durch Konzentrationsänderung die Reihen in Gegenreihen verwandeln.

Die Verschiebung der Teilreihe $SO_4 > SCN$ bei höherer Salzkonzentration in die umgekehrte Reihe $SCN > SO_4$ bei Konzentrationen um n/100 bis n/200 läßt sich bei der Gärung ziemlich leicht herbeiführen. Das werde ich weiter unten an einem Versuche zeigen. Dieser Versuch beweist jedenfalls, daß ein *so wichtiger Zellvorgang, wie der der Gärung, sich kolloidchemisch genau so beeinflussen läßt wie ein Eiweißfällungsvorgang im Reagenzglas. Es überwiegen demnach Kolloidvorgänge über andere Vorgänge in der Zelle.*

Die *Hofmeister*schen oder lyotropen Reihen wurden von *Jacques Loeb* (10) bekanntlich als Folge der Vernachlässigung der Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration bezeichnet. Ich habe aber schon auf die in dem p_H-Intervall 3,50 bis 3,40 durchgeführte Gärungsreihe

hingewiesen. Die Anionenreihen bestehen trotz der *Loeb*schen Kritik zu Recht. Der oben angezogene Versuche beweist sogar, daß *die Salzkonzentration wichtiger ist als die Wasserstoffionenkonzentration, jedenfalls bei intakten Zellen*, wo die Zelle jederzeit selbst ein stark gepuffertes System darstellt und wo andererseits durch die Arbeit der Zelle neue Pufferungen gebildet werden bzw. gebildet werden können.

I. Gärversuche.

A. Anionenreihen. Gärversuche in ungepufferter Lösung.

Die Anionenreihen der Gärversuche 2 bis 5 weichen in mancher Hinsicht von denen in der Übersicht angeführten Reihen etwas ab. Um ein vollständiges Bild der Ionenreihen zu liefern, stelle ich hier diese abweichenden Reihen an den Anfang; bei späteren Versuchen (z. B. Nr. 8) finden sich Reihen, die denen der Übersicht entsprechen; darauf möchte ich hier kurz hinweisen.

Versuch 2.

Natriumsalze. Gesamtkonzentration n/5. Die Durchführung der Versuche verlief stets nach folgendem Schema: Zu 10 ccm Hefe kamen 10 ccm Wasser, dann 10 ccm Normalsalz und dann nach Umschütteln 20 ccm 15proz. Zuckerlösung (Würfelzucker).

Es wurden entwickelt:

Nr.		g CO_2 nach Stunden				
		2	4	6	8	22
1	n/5 NaBr . . .	0,04	0,17	0,37	0,52	1,19
2	n/5 NaCl . . .	0,01	0,18	0,35	0,48	1,10
3	n/5 NaSCN . .	0,03	0,13	0,25	0,38	1,11
4	n/5 Na_2SO_4 . .	0,02	0,18	0,33	0,46	1,08

Es ergibt sich in der *ungepufferten* Lösung die Anionenreihe zunehmender Gärung:

$$SCN < SO_4 < \overrightarrow{Cl < Br}$$

Versuch 3. n/50 Salzkonzentration.

Nr.		g CO_2 nach Stunden				
		2	4	6	8	22
1	n/50 NaBr . . .	0,03	0,15	0,28	0,38	1,03
2	n/50 NaCl . . .	0,05	0,15	0,27	0,35	1,00
3	n/50 NaSCN .	0,07	0,18	0,30	0,40	1,07
4	n/50 Na_2SO_4 .	0,05	0,17	0,31	0,45	1,07

Es ergibt sich für die Angärung (6 bis 8 Stunden) die Reihe:

$$Cl < Br < \overrightarrow{SCN < SO}.$$

Versuch 4. Kalisalze, n/5 Konzentration.

Nr.		g CO_2 nach Stunden				
		2	4	6	8	22
1	n/5 KBr	0,04	0,17	0,34	0,47	1,15
2	n/5 KCl	0,04	0,12	0,41	0,55	1,16
3	n/5 KSCN . .	0,03	0,12	0,25	0,38	1,10
4	n/5 K_2SO_4 . . .	0,01	0,18	0,36	0,51	1,15

Es ergibt sich die Reihe:

$$SCN < Br < | SO_4 < Cl.$$

Versuch 5. n/50 Kalisalze.

Nr.		g CO_2 nach Stunden				
		2	4	6	8	22
1	n/50 KBr . . .	0,07	0,19	0,37	0,48	1,13
2	n/50 KCl . . .	0,04	0,15	0,29	0,39	1,04
3	n/50 KSCN . .	0,05	0,20	0,37	0,47	1,12
4	n/50 K_2SO_4 . .	0,05	0,17	0,34	0,38	1,07

Es ergibt sich die Reihe:

$$\overrightarrow{Cl < SO_4 < | SCN < Br}.$$

Fassen wir bei Reihe 4 und 5 nur SO_4 und SCN ins Auge, so lautet bei der Konzentration n/5 die Reihe

$$\overrightarrow{SCN < SO_4},$$

und bei der Konzentration n/50 die Reihe

$$\overrightarrow{SO_4 < SCN}.$$

Betrachten wir in den Versuchen 4 und 5 das Anionenpaar Cl und Br, so lautet bei der Konzentration n/5 die Reihe

$$\overrightarrow{Br < Cl},$$

und bei der Konzentration n/50 die Reihe

$$\overrightarrow{Cl < Br}.$$

Es ist also hier durch Änderung der Konzentration eine Umkehrung der Halbreihe deutlich erkennbar.

Bei Verwendung der *Natriumsalze* bleibt in dem Konzentrationsintervall n/5 bis n/50 die Reihe

$$\overrightarrow{Cl < Br \text{ und } SCN < SO_4}$$

bestehen, obwohl ganz deutlich die *Differenzen zwischen SO_4 und SCN bei Verwendung von n/50 Salz sich so stark verengern, daß die beiden*

Anionen nur noch geringe Unterschiede zeigen. Die Unterschiede betragen z. B.:

Versuch 2. Nach 8 Stunden	Versuch 3. Nach 8 Stunden
n/5 Br : Cl 40 mg	n/50 Br : Cl 30 mg
n/5 SO_4 : SCN 80 „	n/50 SO_4 : SCN 50 „

Bei den graphischen Darstellungen der Versuche erkennt man, namentlich wenn man die Kurven bis zur Überschneidung weiter auszieht, deutlich die Änderung und Umkehrung der Reihen.

Die *Überschneidung der Kurven kündet sich also bei Verwendung von Natriumsalzen* bereits an, bei *Verwendung von Kalisalzen* ist die Überschneidung bereits eingetreten. Es betragen die Differenzen:

Versuch 4. n/5 SO_4 : SCN nach 8 Stunden 130 mg zugunsten von SO_4.

Versuch 5. n/50 SCN : SO_4 nach 8 Stunden 90 mg zugunsten von SCN.

Die Umkehr der Reihen $SO_4 > SCN$ in $SCN > SO_4$ und die Überschneidung der Kurven zeigt sich sehr schön in Versuch 6, den ich ausführlicher wiedergebe.

Versuch 6.

A. Anordnung des Versuchs.

1.	10 ccm	Hefe,	20 ccm	destilliertes Wasser,	20 ccm 15proz. Zucker.
2.	10 „	„	20 ccm	n KSCN,	20 ccm Zucker.
3.	10 „	„	3 „	n KSCN + 17 ccm	H_2O
4.	10 „	„	1 „	n KSCN + 19 „	H_2O
5.	10 „	„	0,5 „	n KSCN + 19,5 „	H_2O + 20 ccm Zucker.
6.	10 „	„	0,2 „	n KSCN + 19,8 „	H_2O
7.	10 „	„	0,1 „	n KSCN + 19,9 „	H_2O
8.	10 „	„	20 ccm	K_2SO_4	
9.	10 „	„	3 „	K_2SO_4	
10.	10 „	„	1 „	K_2SO_4	mit destilliertem Wasser auf 20 ccm ergänzt + 20 ccm Zucker.
11.	10 „	„	0,5 „	K_2SO_4	
12.	10 „	„	0,2 „	K_2SO_4	
13.	10 „	„	0,1 „	K_2SO_4	
14.	10 „	„	20 „	NaSCN	
15.	10 „	„	3 „	NaSCN	
16.	10 „	„	1 „	NaSCN	mit destilliertem Wasser auf 20 ccm ergänzt, dann 20 ccm 15proz. Rohrzuckerlösung.
17.	10 „	„	0,5 „	NaSCN	
18.	10 „	„	0,2 „	NaSCN	
19.	10 „	„	0,1 „	NaSCN	

B. Verlauf der Gärung.

Nach diesem Versuchsschema bringe ich den Gärverlauf. Es wurden entwickelt:

Nr.	g CO_2 nach Stunden						p_H	
	2	4	6	8	22		am Anfang	am Ende
1	0,05	0,22	0,37	0,48	1,20	Kontrolle	5,87	3,84
2	0,05	0,23	0,42	0,55	1,28	KSCN-Proben	5,55	4,81
3	0,05	0,25	0,45	0,60	1,35		5,58	4,17
4	0,05	0,21	0,38	0,51	1,28		5,32	3,88
5	0,06	0,21	0,36	0,48	1,23		5,46	3,76
6	0,05	0,21	0,38	0,50	1,23		5,44	3,74
7	0,06	0,23	0,40	—	1,24		5,30	3,77
8	0,10	0,47	0,70	0,85	1,43	K_2SO_4-Proben	5,44	3,70
9	0,06	0,26	0,45	0,58	1,30		5,44	3,46
10	0,07	0,34	0,56	0,71	1,35		5,77	3,45
11	0,06	0,23	0,39	0,53	1,23		5,75	3,53
12	0,05	0,20	0,37	0,49	1,22		5,56	3,65
13	0,05	0,20	0,33	0,47	1,17		5,51	3,65
14	0,06	0,27	0,47	0,60	1,35	NaSCN-Proben	5,80	4,34
15	0,04	0,22	0,40	0,55	1,32		5,63	3,98
16	0,06	0,23	0,38	0,51	1,25		5,56	3,69
17	0,07	0,23	0,38	0,50	1,23		5,65	3,65
18	0,06	0,23	0,41	0,51	1,25		5,32	3,62
19	0,06	0,21	0,35	0,46	1,20		5,49	3,65

Man beachte, daß in der ungepufferten Lösung die p_H-Werte sich ziemlich decken, auch die Endwerte am Schlusse der Gärung bewegen sich annähernd in gleicher Richtung. Es ist bei der Konzentration:

$^2/_4$ n $SO_4 > SCN$ p_H 5,55, 5,44 (Versuch 6, Nr. 2 und 8).
$^2/_{50}$ n $SO_4 = SCN$ (Versuch 6, Nr. 3 und 9).
$^1/_{50}$ n $SO_4 < SCN$
$^1/_{100}$ n $SO_4 > SCN$
$^1/_{200}$ n $SO_4 < SCN$ p_H 5,56, 5,44 *Umkehrung* von $SO_4 > SCN$,
$^1/_{250}$ n $SO_4 < SCN$ p_H 5,51 5,31 in $SO_4 < SCN$.

Die Umkehrung liegt bei Versuch 6, also deutlich bei n/200.

Viel schärfer wird die *beginnende Verschiebung innerhalb der Reihen* durch Versuch 7 *angedeutet*, obwohl hier infolge zu hoher Konzentration der verwendeten Salze die Umkehrung der Reihe $SO_4 > SCN$ in $SO_4 < SCN$ erst im Anzuge erkennbar ist.

Versuch 7. Vergleich von K_2SO_4 und KSCN.

Nr.		Entwickelte Menge in CO_2 in g nach Stunden				p_H	
		$2^1/_2$	$4^1/_2$	$6^1/_2$		am Anfang	am Ende
1	$^{10}/_{50}$ n K_2SO_4	0,18	0,45	0,68		5,35	3,64
2	$^5/_{50}$ n K_2SO_4	0,18	0,45	0,72	Sinken der Gärungswerte	5,31	3,52
3	$^1/_{50}$ n K_2SO_4	0,14	0,40	0,64		5,23	3,64
4	$^1/_{100}$ n K_2SO_4	0,18	0,40	0,63		5,14	3,66
5	$^{10}/_{50}$ n KSCN	0,14	0,30	0,49		5,49	4,28
6	$^5/_{50}$ n KSCN	0,13	0,35	0,53		5,45	4,06
7	$^1/_{50}$ n KSCN	0,15	0,37	0,58		5,42	3,83
8	$^1/_{100}$ n KSCN	0,15	0,37	0,60		5,47	3,78

Gerade aus Versuch 7 sieht man sehr deutlich, wie die Gärungswerte mit *sinkender SO_4-Konzentration sinken*, mit *sinkender SCN-Konzentration steigen*.

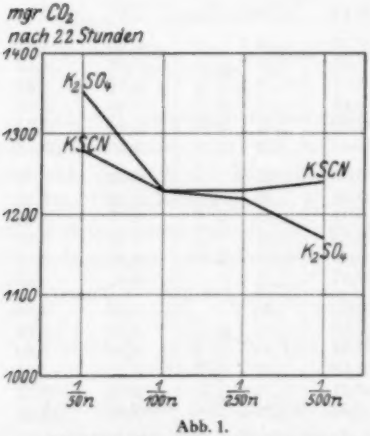


Abb. 1.
Graphische Darstellung des Versuches 6. Die Überschneidung der Kurven, d. h. die Umkehrung der Ionenreihe, liegt deutlich bei der Konzentration n/100.

Dieses gegensätzliche Verhalten von Sulfat und Rhodanid drückt sich sehr anschaulich an der *Überschneidung der Kurvenlinien* in den Abb. 1 und 2 aus, in welchen die beiden Versuche 6 und 7 graphisch wiedergegeben sind. An dem Wertigkeitsunterschied zwischen Sulfat und Rhodan braucht man keinen Anstoß zu nehmen; wir werden später in Versuch 14 sehen, wie bedeutungslos die Valenz sein kann. Es kann also gegen eine direkte Vergleichung von Sulfat mit Rhodanid wohl kaum ein Bedenken geäußert werden.

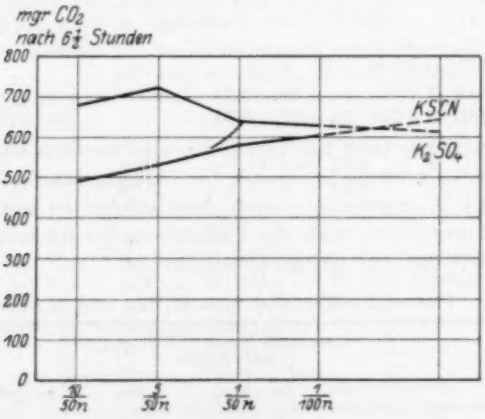


Abb. 2.
Schaubild zu Versuch 7. Man beachte die Überschneidung nach Verlängerung der Kurvenlinien. Die konstruierte Überschneidung der Kurven, d. h. die Umkehrung der Ionenreihe liegt etwas unter n/100. Der konstruierte Umkehrungspunkt deckt sich gut mit dem in Versuch 6 beobachteten.

In den Versuchen 6 und 7 liegen die Werte der Wasserstoffionenkonzentration (bestimmt mit der Chinhydronelektrode, *Lüers*cher

Apparat von *Lautenschläger*, München) gut beieinander. Die Unterschiede in der Gärungsintensität, die zur Überschneidung der Kurven führen, können also der Wirkung der Konzentration zugeschrieben werden; d. h. die Konzentrations- und Salzwirkung überlagert die Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration. Daß die bei Verwendung von Rhodaniden bestimmten p_H-Werte immer etwas weniger sauer sind, findet man allgemein bei allen Messungen. Die Rhodanide üben also eine eigenartige Wirkung auf die Zelle aus, was wir auch später noch bei der Besprechung der Ninhydrinreaktion der filtrierten oder zentrifugierten Gärlösung finden werden. Im Lichtversuch wurde ja die Ninhydrinreaktion bereits kurz angeführt.

Die Umkehrung der Teilreihe $SO_4 > SCN$ in $SCN > SO_4$ durch Änderung der Salzkonzentration steht außer Zweifel. Demnach verhält sich die Hefe und die Gärung wie ein kolloides System im Reagenzglas.

Soweit die Gärung bei normalen Permeabilitätsverhältnissen. Durch *Saponine und gallensaure* Salze [*Boas* (6)] läßt sich die *Permeabilität erheblich steigern*. Wir werden aber trotzdem dieselben Ionenreihen wieder finden, wie sie oben schon dargestellt wurden; d. h. wohl, daß die Salze an anderen Stellen angreifen als Saponine und Gallensalze. Letztere erhöhen die Permeabilität durch Lösung oder Veränderung der Lipoide; sie bewirken dadurch eine starke Steigerung der Gärung; nur wenn höhere Konzentrationen von Gallensalzen auch die Kolloidstruktur und den Chemismus des Eiweißes ändern, tritt Gärungsabfall ein.

Versuch 8. Gärung bei Gegenwart von Gallensalz und Sapotoxin.

Versuchsanordnung.

1. Kontrolle.
2. 10 ccm 2,5proz. glykocholsaures Natrium, 10 ccm Hefe, 10 ccm Wasser, 20 ccm Zucker.
3. 3 „ 2,5proz. glykocholsaures Natrium, 10 ccm Hefe, 10 ccm Wasser, 20 ccm Zucker.
4. 1 „ 2,5proz. glykocholsaures Natrium, 10 ccm Hefe, 10 ccm Wasser, 20 ccm Zucker.
5. 0,5„ 2,5proz. glykocholsaures Natrium, 10 ccm Hefe, 10 ccm Wasser, 20 ccm Zucker.
6. 10 ccm Gallensalz + 10 ccm Hefe + 10 ccm n KNO_3.
7. 10 „ „ + 10 „ „ + 10 „ n K_2SO_4.
8. 10 „ „ + 10 „ „ + 10 „ n KSCN.
9. 10 „ „ + 10 „ „ + 10 „ n KCl.
10. 1 „ „ + 9 ccm Wasser + 10 ccm n KNO_3.
11. 1 „ „ + 9 „ „ + 10 „ n K_2SO_4.
12. 1 „ „ + 9 „ „ + 10 „ n KSCN.
13. 1 „ „ + 9 „ „ + 10 „ n KCl.

14. 10 ccm 2,5proz. Saponin *Merck*
15. 10 „ 2,5 „ „ „ + 10 ccm KNO_3.
16. 10 „ 2,5 „ „ „ + 10 „ K_2SO_4.
17. 10 „ 2,5 „ „ „ + 10 „ KSCN.
18. 10 „ 2,5 „ „ „ + 10 „ KCl.
19. 10 ccm Hefe + 10 ccm Wasser + 10 ccm n KNO_3 + 20 ccm Zucker.
20. 10 „ Hefe + 10 ccm Wasser + 10 ccm n K_2SO_4 + 20 ccm Zucker.
21. 10 „ Hefe + 10 ccm Wasser + 10 ccm n KCl + 20 ccm Zucker.
22. 10 „ Hefe + 10 ccm Wasser + 10 ccm n KSCN + 20 ccm Zucker.

Ergebnisse des Gärversuchs.

Nr.	g CO_2 nach Stunden					
	2	5	$7^1/_4$	9	23	
1	0,09	0,32	0,47	0,53	1,17	
2	0,17	0,73	0,97	1,05	1,41	
3	0,19	0,60	0,81	0,86	1,32	Gallensalz-
4	0,12	0,38	0,56	0,64	1,23	reihe
5	0,11	0,36	0,54	0,60	1,20	
6	0,06	0,24	0,45	—	1,08	
7	0,06	0,25	0,47	—	1,09	Gallensalz + n/5 Neutralsalz
8	0,03	0,16	0,35	—	0,94	
9	0,04	0,19	0,36	—	0,97	
10	0,09	0,34	—	0,90	1,35	
11	0,08	0,61	—	0,92	1,34	Gallensalz
12	0,09	0,50	—	0,82	1,34	Neutralsalz
13	0,05	0,34	—	0,75	1,36	
14	0,12	0,35	—	0,61	1,17	Saponin
15	0,06	0,30	—	0,45	1,02	
16	0,09	0,51	—	0,78	1,28	Saponin- Neutralsalz
17	0,06	0,24	—	0,45	1,05	
18	0,09	0,36	—	0,62	1,20	
19	0,06	0,35	—	0,69	1,31	
20	0,06	0,34	—	0,64	1,27	Neutralsalz
21	0,06	0,34	—	0,67	1,22	allein
22	0,05	0,28	—	0,60	1,30	

Mit der sorgfältig filtrierten Gärlösung wurde zu *Beginn* und am *Ende* der Gärung die *Ninhydrinprobe* unter Beachtung aller Vorsichtsmaßregeln durchgeführt. Hinsichtlich der Fehlerquellen bei der Anstellung der Ninhydrinprobe verweise ich auf die Arbeit von *Halle, Loewenstein* und *Pribram* (11). Zugleich enthält die nachstehende Tabelle den Wert des p_H am Anfang und am Ende des Versuches.

Nr.	Ninhydrinprobe		p_H	
	vor der Gärung	nach der Gärung	vor der Gärung	nach der Gärung
1	0	0	4,60	3,64
2	0	0	5,82	4,56
3	0	0	5,59	4,13
4	0	0	4,73	3,83
5	0	0	4,90	3,73
6	++ NO_3	+	6,00	5,14
7	+ SO_4	+	6,34	5,42
8	++ − +++ SCN	+++	6,15	5,39
9	+++ Cl	++	6,00	5,20
10	0 NO_3	0	—	3,99
11	0 SO_4	0	—	3,85
12	+ SCN	0	—	4,47
13	0 Cl	+	—	3,88
14	0 Saponin	0	5,14	4,11
15	(+) NO_3	+	5,25	4,63
16	(+) SO_4	(+)	5,11	4,33
17	++ − +++ SCN	++ − +++	5,78	4,85
18	(+) Cl	+	4,97	4,42
19	0 NO_3	0	—	4,06
20	0 SO_4	0	—	4,02
21	0 Cl	0	—	3,69
22	(+) SCN	+	—	4,51

Es geht aus dieser Übersicht hervor, *daß Rhodan einen intensiven Austritt von Stoffen aus der Zelle veranlaßt.* Vermutlich stört es auch den Eiweißumsatz und Eiweißaufbau während der Gärung. Mit der *stark erhöhten Permeabilität der Zelle geht eine verminderte Leistung der Zelle einher.* Permeabilität und erhöhte Leistung sind also *bei Gegenwart nennenswerter Salzmengen innerhalb gewisser Grenzen gegenläufige Erscheinungen. Der Salzwirkung* liegt also ein *kolloidchemischer Vorgang zugrunde.* Wir gehen kaum fehl, wenn wir den quellenden, hydratisierenden Ionen, wie SCN, Cl und NO_3, eine starke *Behinderung der Adsorption* bzw. eine starke Förderung der Eigenadsorption zuschreiben. Mit sinkender Adsorptionshemmung geht dann steigende Zelleistung einher.

Die Ionenreihe der zunehmenden Adsorbierbarkeit lautet:

$$\overrightarrow{SO_4\ Br\ Cl\ NO_3\ SCN}.$$

Die Ionenreihe steigender Quellungsförderung und Permeabilitätserhöhung, und was dasselbe ist, in die Dynamik der Zelle übersetzt, die Ionenreihe der Adsorptionshemmung und sinkender Leistung bei der Gärung lautet:

Versuch 8, Nr. 6 bis 9 . . . . . $\overrightarrow{SO_4\ NO_3\ Cl\ SCN}$

„ 8, Nr. 10 „ 13 . . . . . $SO_4\ NO_3\ SCN\ Cl$

„ 8, Nr. 14 „ 18 . . . . . $SO_4\ Cl\ NO_3\ SCN$

Die Ninhydrin- bzw. die Reihe zunehmender Erhöhung der Permeabilität lautet:

Versuch 8, Nr. 6 bis 9 . . . . . SO_4 NO_3 Cl $\overrightarrow{SCN}$
„ 8, Nr. 14 „ 18 . . . . . SO_4 (NO_3 Cl) SCN
„ 8, Nr. 19 „ 22 . . . . . (NO_3 SO_4 Cl) SCN

Die Übereinstimmung ist in allen Fällen befriedigend.

Bei Gegenwart von Salzen ist nicht in erster Linie die Permeabilität, sondern die Adsorptionsbeeinflussung ausschlaggebend für die Leistung der Zelle. Daß aber auch bei Salzgegenwart eine gewisse Permeabilitätserhöhung gleichzeitig die Leistung der Zelle steigern kann, habe ich schon bei Besprechung des Versuches 1 hervorgehoben. Wo also Permeabilitätserhöhung und Leistung gegenläufig sich verhalten, da ist bereits ein erheblicher Salzangriff auf die Zellstruktur erfolgt.

B. Gärversuche in gepufferter Lösung.

1. Pufferung mit Phosphaten.

Das Puffergemisch bestand aus 95 ccm Na_2HPO_4 und 5 ccm KH_2PO_4; in 60 ccm Gesamtgärlösung befanden sich 5 ccm Puffermischung.

Ich bringe zuerst einen Versuch mit einer Gesamtsalzkonzentration von n/60 Natriumsalz.

Versuch 9.

Es wurden entwickelt:

	g CO_2 nach Stunden				
	2	$4^1/_2$	$6^1/_2$	$8^1/_2$	22
n/60 $NaNO_3$ . . .	0,06	0,26	0,38	0,50	1,20
n/60 NaCl	0,06	0,31	0,44	0,56	1,24
n/60 NaSCN . .	0,07	0,25	0,38	0,49	1,19
n/60 NaBr . . .	0,07	0,23	0,34	0,45	1,16
n/60 Na_2SO_4 . .	0,11	0,30	0,44	0,55	1,20

Die p_H-Werte dieses Versuches bewegten sich in folgenden Grenzen:

	Anfangswert	Endwert
NO_3	6,37	4,67
Cl	6,45	4,62
SCN	6,40	4,58
Br	6,54	4,74
SO_4	6,54	4,70

Aus dem Gärverlauf ergibt sich folgende Anionenreihe steigender Gärung:

Mittelgärung (4½ bis 8½ Stunden)

$$\text{Br SCN Cl } NO_3 \text{ } SO_4 \xrightarrow{\text{Gärungszunahme}}$$

Endgärung

Br SCN (NO_3 SO_4) Cl

Mit derselben Hefe wurden zu gleicher Zeit bei Verwendung von $^{10}/_{60}$ n Natriumsalz folgende Werte erhalten.

Versuch 10.

	CO_2-Entwicklung in g nach Stunden				
	2	4½	6½	8½	22
$NaNO_3$ . .	0,06	0,25	0,37	0,50	1,21
Cl	0,06	0,25	0,39	0,52	1,20
SCN . . .	0,06	0,26	0,38	0,51	1,23
Br	0,05	0,28	0,40	0,51	1,18
SO_4	0,08	0,34	0,45	0,56	1,25

Die p_H-Werte beziffern sich auf:

	Anfangswert	Endwert
NO_3	6,30	4,72
Cl	6,26	4,57
SCN	6,39	4,88
Br	6,33	4,79
SO_4	6,37	4,57

Die Ninhydrinreaktion der gut filtrierten Gärlösung ergab folgendes Bild:

	Vor der Gärung	Nach der Gärung
NO_3	0	0
Cl	0	0
SCN	(+)	?
Br	0	0
SO_4	((+)) ganz schwach +	

Eine Anionenreihe ist hier in Versuch 10 kaum aufzustellen, sicher ist nur, daß SO_4 am Ende der Reihe steht. Die Öffnung der Zellen scheint so gering zu sein, daß ein Parallelismus zwischen Ninhydrinreaktion und Gärleistung nicht zu finden ist. Die einwertigen Anionen liefern so zusammenfallende Werte, daß ich keine Anionenreihe aufstellen möchte.

Dagegen wurde eine *deutliche Anionenreihe* in der mit Phosphat gepufferten Lösung erzielt bei Anwendung *von Ammonsalzen*, wie der folgende Versuch mit $^{10}/_{60}$ n Ammonsalzen zeigt. Dieser Versuch wurde

gleichzeitig und mit derselben Hefe wie die Versuche 9 und 10 durchgeführt. Es wurden entwickelt:

Versuch 11.

	g CO_2 nach Stunden				
	1	$2^1/_2$	$4^1/_2$	$6^1/_2$	20
NH_4NO_3 .	0,03	0,21	0,34	0,45	1,20
Cl	0,04	0,19	0,30	0,41	1,19
SCN . . .	0,04	0,18	0,31	0,41	1,20
Br	0,04	0,29	0,45	0,58	1,27
SO_4	0,04	0,24	0,37	0,49	1,19

Die p_H-Werte liegen zwischen:

	Anfangswert	Endwert
NH_4NO_3 . . .	6,20	4,41
Cl	6,21	4,10
SCN	6,18	4,72
Br	6,28	3,84
SO_4	6,35	4,12

Die Ninhydrinreaktion der blank filtrierten Gärlösung ergab folgendes Bild:

	Vor der Gärung	Nach der Gärung
NO_3	0	0
Cl	0	0
SCN	++ (tief blau)	+++
Br	0	0
SO_4	0	(+)

Es besteht hier ein deutlicher Parallelismus zwischen Ninhydrinreaktion, d. h. zwischen dem Austreten von Eiweißkörpern aus der Zelle und der Leistung. *Die Rhodanprobe zeigt anfangs die schwächste Gärung und deutliche Ninhydrinreaktion, die Sulfatprobe gibt nur am Schlusse eine Reaktion. Es ist nun auffallend, daß gegen Schluß die Gärung der Sulfatprobe im Vergleich mit Cl und Br intensiv abfällt,* mit dem Abfallen der Leistung geht die Ninhydrinreaktion parallel! Es ändert sich also bei demselben Salze während der Gärung die Wirkung auf die Zelle! In einer Kurve drückt sich diese Änderung durch eine Überschneidung aus. Die Anionenreihe lautet für die Angärung:

$$\overrightarrow{SCN < Cl < NO_3 < SO_4 < Br}$$

und für die Endgärung:

$$\overrightarrow{(Cl \mid SO_4) < (SCN < NO_3) < Br}$$

2. Pufferung mit Glykokoll.

a) Pufferung mit 5 ccm Glykokoll HCl. Gesamtvolumen 60 ccm.

Versuch 12.

Es wurden entwickelt:

	g CO_2 nach Stunden			
	2	5	7	23
n/6 NaCl .	0,05	0,24	0,42	1,05
n/6 NaBr .	0,08	0,43	0,63	1,26
n/6 $NaNO_3$	0,06	0,31	0,53	1,24
n/6 Na_2SO_4	0,10	0,47	0,66	1,30
n/6 NaSCN	0,06	0,28	0,47	1,17

Die p_H-Werte bewegten sich zwischen:

	Angärung	Endgärung
Cl	3,51	3,41
Br	—	3,39
NO_3	3,50	3,46
SO_4	3,65	3,46
SCN	3,70	4,04

Am Ende der Gärung ergab die Gärlösung folgende Ninhydrinreaktion:

NaCl	(+)	Spur blau
NaBr	?	unsichere Reaktion
$NaNO_3$	+	deutlich blau
Na_2SO_4	+	„ „
NaSCN	+++	tiefblau

Es scheint also einmal Rhodan die Eiweißsynthese überhaupt zu hemmen, weil die Ninhydrinprobe positiv bleibt, sodann scheint es auch noch weiter ninhydrinaktive Körper aus der Zelle herausdiffundieren zu lassen, da die Probe ganz intensiv ausfällt. Im Zusammenhang mit anderen Versuchen wird wohl mit Recht angenommen, daß durch Rhodan ein intensives Herausdiffundieren veranlaßt wird; wir sehen also hier wieder, daß die Leistung der Zelle im umgekehrten Verhältnis zur Permeabilität steht. Die hier beobachteten Anionenreihen lauten:

$$\text{Anfangs- und Mittelgärung:}\quad Cl < SCN < NO_3 < SO_4 < Br$$

$$\text{Endgärung:}\quad Cl < SCN < NO_3 < Br < SO_4$$

Die Verschiebung in der Reihe $SO_4 > Br$ in $Br > SO_4$ deutet auf eine Erholung und auf eine Änderung des kolloiden und chemischen Zustandes der Reihe.

b) Pufferung mit 5 ccm Glykokoll NaOH.

Versuch 13.

Es wurden entwickelt:

	g CO_2 nach Stunden			
	$1^1/_2$	$4^1/_2$	$6^1/_2$	23
n/6 NaCl .	0,06	0,13	0,24	0,96
n/6 NaBr .	0,05	0,17	0,34	1,00
n/6 $NaNO_3$	0,06	0,20	0,39	1,11
n/6 Na_2SO_4	0,06	0,17	0,31	0,98
n/6 NaSCN	0,07	0,21	0,39	1,13

Die p_H-Werte betrugen:

	Am Anfang der Gärung	Am Ende der Gärung
NaCl	4,94	3,74
NaBr	—	3,69
$NaNO_3$ . . .	5,08	3,79
Na_2SO_4 . . .	5,20	3,69
NaSCN . . .	5,20	4,14

Die in Versuch 13 auftretende Anionenreihe lautet:

$$\overrightarrow{Cl < SO_4 < Br < NO_3 < SCN}$$

Diese Reihe stellt so ziemlich die Umkehrung der mit Glykokoll-HCl beobachteten Reihe dar; namentlich wenn wir vom Anion Cl absehen, dann lauten die Reihen:

a) Versuch 12. Glykokoll-HCl: $\overrightarrow{SCN < NO_3 < SO_4 < Br}$
b) Versuch 13. Glykokoll-NaOH: $\overleftarrow{SCN > NO_3 > Br > SO_4}$

Beide Versuche sind durchaus vergleichbar, da sie zu derselben Zeit mit der gleichen Hefe durchgeführt wurden.

Ähnliche Umkehrungen lassen sich weiter durch ganz andere Methodik erzielen, nämlich durch *gleichzeitige Behandlung der Hefe mit Gallensalzen und (wenigstens im Anfang) alkalischer Phosphatpufferung*. Jedenfalls nehme ich an, daß das Gärgut durch den Zusatz von Gallensalz und 5 ccm Phosphat anfangs schwach alkalisiert war. Durch die folgende Zugabe von 20 ccm Würfelzuckerlösung wird die Reaktion ins schwach Saure verschoben. Der Gang der Hefebehandlung war wie gewöhnlich folgender: 1. 10 ccm Hefe, 2. 10 oder x ccm Gallen-

salz, 3. 5 ccm Phosphat + 5 ccm Wasser, 4. 20 ccm 15proz. Rohrzuckerlösung. Ich möchte nun die Gallensalz-Phosphatversuche bringen.

Pufferung mit Phosphat bei Gegenwart von Natriumsalzen.

Verwendete Gallensalzlösung, 2,5proz., Pufferung 10 ccm Phosphatlösung.

Versuch 14.

Versuchsanordnung.

1. 20 ccm 2,5proz. glykokollsaures Natrium.
2. 10 „ 2,5 „ „ „
3. 1 „ 2,5 „ „ „

Reihe I.

4.	10 ccm Hefe		10 ccm $NaNO_3$.
5.	+ 10 ccm		10 „ NaCl.
6.	Gallensalz	sodann:	10 „ NaBr.
7.	+ 10 ccm		10 „ Na_2SO_4.
8.	Puffer		10 „ NaSCN.

Reihe II.

9.	10 ccm Hefe		10 ccm $NaNO_3$.
10.	+ 1 ccm		10 „ NaCl.
11.	Gallensalz	sodann:	10 „ NaBr.
12.	+ 10 ccm		10 „ Na_2SO_4.
13.	Puffer		10 „ NaSCN.

Die Gärung ergab folgende Mengen:

Nr.	g CO_2 nach Stunden					
	2	4	6	$7^1/_2$	22	
1	0,09	0,33	0,57	—	1,31	Gallensalz allein
2	0,12	0,41	0,67	—	1,34	
3	0,13	0,39	0,63	—	1,27	
			Reihe I.			
4	0,04	0,11	0,27	0,32	0,91	$NaNO_3$
5	0,04	0,08	0,23	0,26	0,87	NaCl
6	0,06	0,12	0,29	0,33	0,36	NaBr
7	0,04	0,10	0,24	0,28	0,31	Na_2SO_4
8	0,08	0,18	0,40	0,49	1,18	NaSCN
			Reihe II.			
9	0,02	0,14	0,39	0,47	1,14	$NaNO_3$
10	0,03	0,15	0,38	0,49	1,13	NaCl
11	0,01	0,15	0,38	0,49	1,11	NaBr
12	0,03	0,16	0,38	0,47	1,13	Na_2SO_4
13	0,04	0,20	0,44	0,58	1,22	NaSCN

Die p_H-Werte und Ninhydrinreaktion bewegten sich in folgenden Grenzen:

Nr.	p_H		Ninhydrinreaktion	
	vor der Gärung	nach der Gärung	vor der Gärung	nach der Gärung
1	6,33	5,12		
2	6,18	4,60		
3	6,11	3,75		
		Reihe I.		
4	6,51	5,40 NO_3	?	++
5	6,51	5,40 Cl	(+)	+
6	6,58	5,35 Br	0	(+)
7	6,58	5,41 SO_4	0	+++
8	6,63	5,40 SCN	+	++
		Reihe II.		
9	6,42	4,48 NO_3		0
10	6,42	4,48 Cl		0
11	6,51	4,44 Br		0
12	6,49	4,44 SO_4		0
13	6,68	4,74 SCN		(+)

Aus diesem Versuche ergeben sich folgende Reihen zunehmender Förderung der Gärung:

a) mit 0,5 proz. Gallensalz $\overrightarrow{Cl\ SO_4\ NO_3\ Br\ SCN}$.

b) mit 0,05 proz. Gallensalz $\left[\begin{matrix}(Cl)\\(NO_3)\\(Br)\\(SO_4)\end{matrix}\right] \rightarrow SCN$

Auf jeden Fall liegt eine deutliche Umkehrung der Reihe gegenüber den üblichen Reihen vor. Wichtig ist der Befund der Reihe II, Nr. 9 bis 13. Es liegen hier die Wirkungswerte der ein- und zweiwertigen Ionen so nahe beisammen, daß ein Unterschied in der Wirkung zwischen ein- und zweiwertigen nicht vorhanden ist. Dieser Gruppe ein- und zweiwertiger Ionen tritt das einwertige Rhodanion scharf gegenüber *Es handelt sich hier um eine völlige Sprengung und Verdrehung Loebscher Valenzreihen. Die Zelle ist jedenfalls in der Lage, durch ihre Pufferungen den Wert der Ladung zu kompensieren.* Man ersieht daraus, wie vorsichtig man in der Übertragung von Reagenzglasversuchen auf die Zelle sein muß. Einheitliche Kolloidmodelle im Reagenzglas ergeben ganz andere Werte als das aus drei Kolloidphasen, nämlich aus Lipoiden, Eiweißkörpern und Kohlehydraten bestehende Zellsystem; das obendrein stets autoregulativ neue Kolloidphasen schaffen kann. Weiter geht aus Versuch 14, Nr. 9 bis 13 hervor, daß die chemische und kolloidchemische Wirkung der Ionen wichtiger sein kann als die Rolle der Ladung, auf die bekanntlich *Jacques Loeb* alle seine Ergebnisse zurückführt. Die Zelle beseitigt jedenfalls den Einfluß der Ladung mit Leichtigkeit.

Eine Wiederholung dieses Versuches ergab folgende Werte:

Versuch 15. A. Ausgangspufferlösung eingestellt auf p_H 7,32.
(Dieser Wert ändert sich etwas durch die Zugabe der Zuckerlösung zur Gärflüssigkeit.)

Es wurden entwickelt:

	g CO_2 nach Stunden					Schema des Versuchs
	2	4	6	8	23	
			Reihe I.			
NaCl . .	0,06	0,20	0,39	0,44	1,22	10 ccm Hefe, 5 ccm Puffer + 5 ccm Wasser, 10 ccm Gallensalz + 10 ccm Neutralsalz, 20 ccm 15 proz. Zucker.
Br . . .	0,08	0,23	0,38	0,45	1,18	
NO_3 . .	0,07	0,19	0,29	0,36	1,00	
SCN . .	0,11	0,31	0,48	0,56	1,23	
SO_4 . .	0,05	0,22	0,32	0,51	1,12	
			Reihe II.			
NaCl . .	0,09	0,29	0,42	0,52	1,22	1 ccm Gallensalz, im übrigen wie Reihe I.
Br . . .	0,09	0,31	0,46	0,63	1,20	
NO_3 . .	0,10	0,32	0,48	0,56	1,14	
SCN . .	0,13	0,37	0,52	0,58	1,28	
SO_4 . .	0,13	0,34	0,50	0,57	1,23	

Die p_H-Werte und die Ninhydrinreaktion ergab folgendes:

	p_H		Ninhydrinreaktion	
	vor der Gärung	nach der Gärung	vor der Gärung	nach der Gärung
NaCl . .	—	5,25	—	+
Br . . .	—	5,24	—	+
NO_3 . .	—	5,29	—	+
SCN . .	6,40	5,29	+++	+
SO_4 . .	6,16	5,39	++	+++
NaCl . .	—	4,24	—	0
Br . . .	—	4,28	—	0
NO_3 . .	—	4,35	—	0
SCN . .	6,63	4,57	0	0
SO_4 . .	6,12	4,38	0	0

Versuch 16. B. Ausgangslösung mit Phosphat auf p_H 5,10 eingestellt.

Es wurden entwickelt:

	g CO_2 nach Stunden					Schema des Versuches
	2	4	6	8	23	
			Reihe I.			
NaCl . .	0,05	0,17	0,27	0,37	1,19	10 ccm Gallensalz, 5 ccm Puffer, 10 ccm n Neutralsalz
Br . . .	0,05	0,17	0,32	0,42	1,20	
NO_3 . .	0,07	0,18	0,28	0,36	1,07	
SCN . .	0,07	0,23	0,36	0,44	1,09	
SO_4 . .	0,07	0,20	0,32	0,42	1,15	
			Reihe II.			
NaCl . .	0,10	0,27	0,45	0,57	1,12	10 ccm Hefe, 1 ccm Gallensalz, 5 ccm Puffer, 10 ccm n Neutralsalz, 20 ccm Zucker
Br . . .	0,12	0,34	0,52	0,62	1,28	
NO_3 . .	0,12	0,32	0,48	0,56	1,23	
SCN . .	0,08	0,29	0,46	0,52	1,17	
SO_4 . .	0,12	0,35	0,55	0,57	1,29	

Die p_H-Werte und die Ninhydrinreaktion sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt:

	p_H		Ninhydrinreaktion	
	vor der Gärung	nach der Gärung	vor der Gärung	nach der Gärung
NaCl . .	—	4,57	—	0
Br . . .	—	4,57	—	0
NO_3 . .	—	4,71	—	(+)
SCN . .	5,60	4,68	0	(+)
SO_4 . .	5,71	4,56	++	(+)
NaCl . .	—	3,48	—	0
Br . . .	—	3,51	—	0
NO_3 . .	—	3,64	—	0
SCN . .	5,08	3,98	0	0
SO_4 . .	5,13	3,60	0	0

Es ergeben sich aus Versuch 15 folgende Reihen:

A. Pufferung etwa p_H 7,00.

Reihe I mit 0,2 proz. Gallensalz.

a) Nach 4 Stunden: $NO_3 < Cl < SO_4 < Br < SCN$.
b) „ 8 „ $NO_3 < Cl < Br < SO_4 < SCN$.
c) „ 23 „ $NO_3 < SO_4 < Br < Cl < SCN$.

Reihe II. Probe mit 0,02 proz. Gallensalz.

a) Nach 4 Stunden: $Cl < Br < NO_3 < SO_4 < SCN$.
b) „ 8 „ $Cl < NO_3 < SO_4 < SCN < Br$.
c) „ 23 „ $NO_3 < Br < Cl < SO_4 < SCN$.

Versuch 16 B, mit Pufferung 5,10, Reihe I.

a) Nach 4 Stunden: $\begin{matrix}(Cl)\\(Br)\\(NO_3)\end{matrix} < SO_4 < SCN$.
b) „ 8 „ $(NO_3) < (Br) < SCN$.
c) „ 23 „ $\begin{matrix}(Cl)\end{matrix} \quad \begin{matrix}(SO_4)\end{matrix}$ $NO_3 < SCN < SO_4 < Cl < Br$.

Probe mit 0,02 proz. Gallensalz.

a) Nach 4 Stunden: $Cl < SCN < NO_3 < Br < SO_4$.
b) „ 8 „ $SCN < \left[\begin{matrix}(NO_3)\\(SO_4)\\(Cl)\end{matrix}\right] < Br$.
c) „ 23 „ $Cl < SCN < NO_3 < SO_4$.

Die Versuche 14 mit 16 zeigen die Umkehrung der gewöhnlichen Anionenreihen. In Versuch 14 haben wir die Reihe

$$\overrightarrow{Cl\ SO_4\ NO_3\ Br\ SCN}\ \text{(d. h. z. B. } SO_4 < SCN\text{)},$$

in Versuch 16, Reihe II, die Anordnung

$$\overrightarrow{Cl\ SCN\ NO_3\ Br\ SO_4}\ \text{(d. h. z. B. } SO_4 > SCN\text{)}.$$

Die Reihe des Versuches 14 stellt die völlige Umkehrung des Versuches 1 dar, wo die Reihe

$$\xrightarrow{\qquad\qquad} \text{SCN Cl } NO_3 \text{ } SO_4$$

auftrat.

Wichtig ist die Tatsache, daß in Versuch 16 eine hier nicht erwähnte Kontrollgärung mit derselben Hefe in gepufferter Lösung, aber ohne Gallensalz, die Gärungsreihe $SO_4 > SCN$ ergab. Auch in Versuch 16, Reihe II ergab sich die Reihe $SO_4 > SCN$, in den Versuchen 15 und 16, Reihe I dagegen die Reihe $SCN > SO_4$. Diese Umkehrung ist also durch Schaffung neuer kolloider Oberflächen bedingt. Namentlich möchte ich auch auf die Umstellungen während der Gärung hinweisen. Es handelt sich hier um Erholung der Zelle von einem Angriff und um Änderung der Permeabilität. Besonders schön sieht man das am Sulfation bzw. am Rhodanion. In Versuch 15, Reihe I öffnet zwar Rhodan anfangs die Zelle, aber die Ninhydrinreaktion nimmt gegen Schluß stark ab, umgekehrt ist es bei Sulfat, die starke Ninhydrinreaktion deutet auf starke Änderung der Permeabilität hin, die sich erst im Laufe der Gärung einstellt. An der Überschneidung der Kurven sieht man am besten die Änderungen, die durch ein Salz im Verlauf der Gärung hervorgerufen werden. Die starken Umstellungen der Reihen sind der Ausdruck dieser Verkehrungen der Wirkung.

B. Kationenversuche.

I. Dynamische Kationenreihen.

Über die Wirkung der Kationen kann ich nur verhältnismäßig wenig Versuche mitteilen. Dies ist zum Teil darin begründet, daß ein Teil der Salze, wie die von Cäsium und Rubidium, ziemlich teuer sind, was bei den zahlreichen notwendigen Reihenversuchen ins Gewicht fällt.

Die Kationenwirkung bringe ich unter Verwendung von *Nitraten* in ungepufferter, in gepufferter Lösung und schließlich bei Gegenwart von Gallensalzen zur Darstellung.

Die Anordnung des Kationenversuchs war folgende:

Versuch 16. Vergleichender Versuch.

Reihe I in gepufferter und ungepufferter Lösung.

1. 10 ccm Hefe, 30 ccm H_2O, 20 ccm 15proz. Zuckerlösung.
2. 10 ccm Hefe, 10 ccm H_2O, 20 ccm n/2 $CsNO_3$, 20 ccm 15proz. Zuckerlösung.
3. 10 ccm Hefe, 20 ccm H_2O, 10 ccm n $RbNO_3$, 20 ccm 15proz. Zuckerlösung.
4. 10 ccm Hefe, 20 ccm H_2O, 10 ccm n KNO_3, 20 ccm 15proz. Zuckerlösung.
5. 10 ccm Hefe, 20 ccm H_2O, 10 ccm n $LiNO_3$, 20 ccm 15proz. Zuckerlösung.
6. 10 ccm Hefe, 20 ccm H_2O, 10 ccm n $NaNO_3$, 20 ccm 15proz. Zuckerlösung.

Reihe II.

7. 10 ccm Hefe, 20 ccm H_2O, 10 ccm Phosphatpuffer.
8. 10 „ „ 10 „ H_2O, 10 „ Puffer, 10 ccm n $CsNO_3$[1]).
9. 10 „ „ 10 „ H_2O, 10 „ „ 10 „ n $RbNO_3$.
10. 10 „ „ 10 „ H_2O, 10 „ „ 10 „ n KNO_3.
11. 10 „ „ 10 „ H_2O, 10 „ „ 10 „ n $LiNO_3$.
12. 10 „ „ 10 „ H_2O, 10 „ „ 10 „ n $NaNO_3$.

Reihe III.

13. 10 ccm Hefe, 20 ccm H_2O, 10 ccm 1proz. Na-Glykocholat.
14. 10 „ „ 0 „ H_2O, 10 „ Gallensalz + 20 ccm n/2 $CsNO_3$.
15. 10 „ Hefe, 17,5 ccm H_2O, 10 ccm Gallensalz + 2,5 ccm n $RbNO_3$[2]).
16. 10 „ Hefe, 10 ccm H_2O, 10 ccm Gallensalz + 10 ccm n KNO_3.
17. 10 „ Hefe, 10 ccm H_2O, 10 ccm Gallensalz + 10 ccm n $LiNO_3$.
18. 10 „ Hefe, 10 ccm H_2O, 10 ccm Gallensalz + 10 ccm n $NaNO_3$.

Das Gesamtvolumen der Gärlösung betrug nach Zugabe von 20 ccm 15proz. Zuckerlösung 60 ccm.

Versuch 16.

Es wurden entwickelt:

Nr.	g CO_2 nach Stunden					
	2	6	8	22	30	
			Reihe I.			
1	0,13	0,21	0,31	0,81	0,99	Kontrolle
2	0,08	0,18	0,28	0,80	0,98	$CsNO_3$
3	0,16	0,31	0,41	0,94	1,11	Rb
4	0,10	0,22	0,33	0,87	1,07	K
5	0,10	0,22	0,32	0,82	1,02	Li
6	0,13	0,23	0,35	0,92	1,10	Na
			Reihe II.			
7	0,13	0,25	0,37	0,86	1,01	Kontrolle
8	0,12	0,22	0,32	0,73	0,90	Cs
9	0,16	0,26	0,38	0,86	1,01	Rb
10	0,12	0,23	0,31	0,81	1,03	K
11	0,14	0,23	0,31	0,78	0,96	Li
12	0,12	0,22	0,32	0,84	1,02	Na

[1]) n $CsNO_3$ wurde durch gelindes Erwärmen hergestellt.

[2]) Dieser Versuch fällt aus der Reihe heraus; wegen Mangel an $RbNO_3$ wurden hier nur die restigen 2,5 ccm verwendet.

Nr.	g CO_2 nach Stunden					
	2	6	8	22	30	
			Reihe III.			
13	0,16	0,30	0,40	0,90	1,07	Kontrolle
14	0,13	0,21	0,38	0,71	0,90 Cs	Gallen-
15	0,18	0,30	0,40	0,89	1,08 Rb	salz
16	0,13	0,22	0,34	0,81	1,05 K	+
17	0,09	0,14	0,20	0,55	0,72 Li	Neutral-
18	0,11	0,23	0,31	0,83	1,04 Na	salz

Dieser Kationenversuch ergibt folgende Kationenreihen:

Reihe I.

Nr. 2 bis 6: $\overrightarrow{\text{Cs Li Na K Rb}}$ (8 Stunden) bzw. $\overrightarrow{\text{Cs Li K Na Rb}}$ (22 Stunden).

Reihe II.

Nr. 8 bis 12: $\overrightarrow{\text{Cs Li Na K Rb}}$ (22 Stunden).

Reihe III.

Nr. 14 bis 18: $\overrightarrow{\text{Li Cs Na K}}$ (22 Stunden) bzw. $\overrightarrow{\text{Li Na K Cs}}$ (8 Stunden) Zunehmende Gärung.

Rb fällt in Reihe III aus, da aus Materialmangel nur 2,5 ccm Salzlösung angewendet werden konnten!

In der Reihe III, d. h. in der Gallensalzreihe, tritt bei genauer Betrachtung der Kationenwirkung im Laufe der Gärung eine Umstellung der Reihen ein. Die Anfangsreihe (2 Stunden) lautet:

I. $\overrightarrow{\text{Li Cs Na K}}$,

nach 6 Stunden lautet die Reihe:

II. Li Cs K Na,

nach 8 Stunden:

III. Li Na K Cs,

und am Schluß der Gärung:

IV. Li Cs Na K.

Es treten also die schon einmal betonten Umstellungen, die auf Erholung der Zellen, auf Bildung neuer Kolloidoberflächen und, was dasselbe aussagt, auf die Entstehung neuer Gleichgewichte hinweisen, in dem Kationenversuch sehr deutlich auf. Die *Giftigkeit*, *Wirksamkeit* und *Permeabilitätsbeeinflussung* eines Ions kann sich also wohl im Laufe eines Versuches ins Gegenteil verkehren.

Die p_H-Werte und die Ninhydrinreaktion dieses Versuches sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Versuch 17.

Nr.	p_H		Ninhydrinreaktion	
	vor der Gärung	nach der Gärung	vor der Gärung	nach der Gärung
1	5,42	4,39		
2	6,13	4,65		
3	6,31	4,57	0	0
4	6,27	4,51		
5	6,11	4,17		
6	6,30	4,39		
7	7,01	5,52		+ rot
8	6,84	5,90	Cs	+++ violett
9	6,77	5,58	Rb	(+) schwachrot
10	6,70	5,49	K	+ rot
11	6,70	4,95	Li	++ violett
12	6,71	5,59	Na	0
13	5,70	4,36		0
14	6,08	4,89	Cs	++ violett
15	5,69	4,39	Rb	+ rötlich
16	5,74	4,57	K	0
17	5,75	4,34	Li	+++ blau
18	5,46	4,53	Na	0

Die Gärleistung stimmt hier ziemlich gut mit der Stärke der Ninhydrinreaktion überein: In Probe 17 sind nach 30 Stunden nur 0,72 g CO_2 entwickelt, während die Ninhydrinreaktion am stärksten im Vergleich mit allen anderen ist. Starke Öffnung der Zellen läßt die Salze ungehindert eindringen und ihr Störungswerk beginnen. Bei Gegenwart von Salzen geht, genau so, wie das bei den Anionen beobachtet wurde, stark erhöhte Permeabilität einer verminderten Leistung parallel.

Ganz das gleiche Ergebnis wurde in einem anderen Versuch bei Gegenwart einer Phosphat-Gallensalzpufferung erhalten.

Versuch 18. Phosphatpufferung neben Gallensalzen.

Es wurden erhalten:

Nr.		g CO_2 nach Stunden				
		4	6	8	22	30
1	10 ccm Gallensalz + 10 ccm Phosphat . . .	0,10	0,19	0,30	0,84	1,01
2	10 „ „ 10 ccm P_2O_5 + n/5 $CsNO_3$	0,07	0,13	0,20	0,59	1,74
3	10 „ „ 10 ccm P_2O_5 + n/5 $LiNO_3$	0,07	0,09	0,15	0,47	1,62
4	10 „ „ 10 ccm P_2O_5 + n/5 $NaNO_3$	0,07	0,14	0,24	0,75	1,97
5	10 „ „ 10 ccm P_2O_5 + n/5 KNO_3	0,13*)	—	—	—	—

*) Weitere Wägung durch Beschädigung eines Kolbens unmöglich.

Nach der Gärung ergab die Ninhydrinreaktion folgende Werte:

Versuch 18.

1. Kontrolle	?	(unsicher)
2. $CsNO_3$	+++	stark violett
3. $LiNO_3$	+++	„ „
4. $NaNO_3$	+	schwach violett
5. KNO_3	(+)	rötlich

Hier ist der Gegensatz zwischen Gärleistung und dem Ausfall der Ninhydrinreaktion recht scharf ausgeprägt. Die Intensität der Ninhydrinreaktion kommt in der Abb. 3 deutlich zur Geltung.

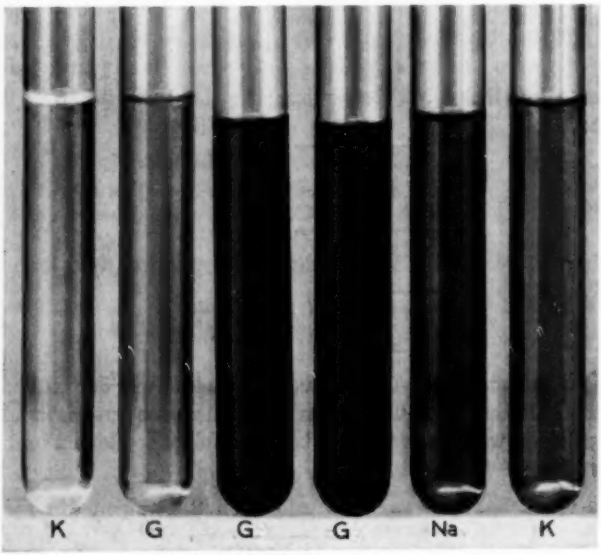


Abb. 3.
Ninhydrinreaktion am Schluß des Versuchs 18. Von links nach rechts: Kontrolle ohne Zusatz; Gallensalzprobe; Gallensalz mit $CsNO_3$, $LiNO_3$, $NaNO_3$ und KNO_3. Mit abnehmender Ninhydrinreaktion nimmt die Gärungsintensität zu.

Auch in *ungepufferter Lösung* wurde ein Versuch mit Kationen durchgeführt. Die Hefe stand in diesem Falle allerdings 23 Stunden mit einer Konzentration von n/3 Salzen in Berührung, dann wurden erst 20 ccm Rohrzucker zur Hefe zugegeben. Die Gärung war infolge der schlechten Behandlung der Hefe entsprechend langsam.

Versuch 19. Ohne Pufferung.

Es wurden entwickelt:

Nr.		g CO_2 nach Stunden			
		5¾	8½	23	
1	Salzarme Kontrolle	0,23	0,38	1,08	Salzkontrolle
	Reihe I n/10.				
2	n/10 $CsNO_3$	0,18	0,34	1,11	Cs
3	$LiNO_3$	0,07	0,09	0,26	Li
4	$RbNO_3$	0,09	0,13	0,60	Rb
5	$NaNO_3$	0,07	0,08	0,36	Na
6	KNO_3	0,05	0,06	0,35	K
	Reihe II n/50.				
7	n/50 $CsNO_3$	0,21	0,38	1,10	Cs
8	n/50 $LiNO_3$	0,10	0,16	0,59	Li
9	n/50 $RbNO_3$	0,10	0,15	0,66	Rb
10	n/50 $NaNO_3$	0,10	0,13	0,56	Na

Versuch 19 liefert bei Verwendung der Konzentration n/10 folgende Reihen:

1. $\overrightarrow{K(Li\ Na)\ Rb\ Cs}$ (5¾ Stunden).
2. $\overrightarrow{K(Li\ Na)\ Rb\ Cs}$ (8½ „).
3. $\overrightarrow{Li(Na\ K)\ Rb\ Cs}$ (23 „).

Die entsprechenden Reihen der Konzentration n/50 lauten:

1. $\overrightarrow{Na\ Li\ Rb\ Cs}$ (8½ Stunden).
2. $\overrightarrow{Na\ Li\ Rb\ Cs}$ (23 „).

Diese Reihen stellen eine fast völlige Umkehrung der im Versuch 17 gefundenen Reihen dar; wenn man Rubidium, das aus Materialmangel ausfallen muß, wegläßt, dann ergeben sich folgende Reihen und Gegenreihen:

In Versuch 17, Reihe I, wurde nach 8 Stunden die Ionenfolge

$$\overrightarrow{Cs\ Li\ Na\ K}$$

und nach 22 Stunden fast unverändert die Folge

$$\overrightarrow{Cs\ Li\ K\ Na}$$

beobachtet.

Versuch 19 liefert in ungepufferter Lösung die Reihe

$$\overrightarrow{Li\ K\ Na\ Cs}$$

Wir haben also fast eine völlige Umkehrung der Reihen vor uns, indem namentlich gerade das charakteristische Endglied der Reihe Cs

seine Stellung total auf die Gegenseite der Reihe wechselt. Vgl. hierzu die graphische Darstellung des Versuchs 17, Reihe 1, und 19, Reihe 1.

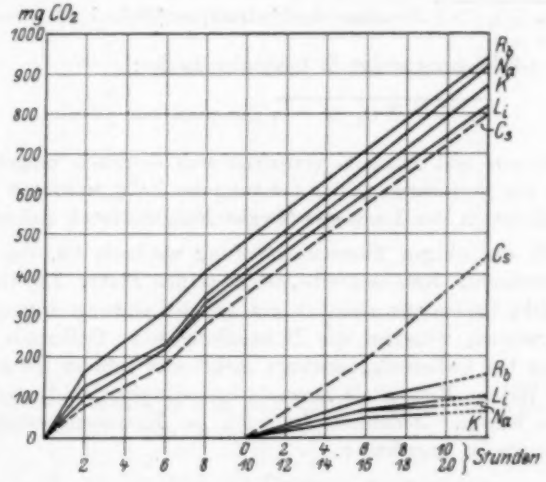


Abb. 4.

Oberes Bild: Kationenreihe des Versuchs 17, Reihe 1. Unteres Bild: Kationenreihe des Versuchs 19, Reihe 1. Cs vertauscht völlig den Platz; auch Li verhält sich ähnlich.

Daß im selben Versuch 17 (Reihe III, Gallensalz Nr. 14 bis 18) schon eine Andeutung einer Umkehrung $\overrightarrow{\text{Li Cs Na}}$ und $\overrightarrow{\text{Li Na Cs}}$ gefunden wurde, sei der Vollständigkeit halber nur kurz erwähnt.

Die theoretische Kationenreihe lautet, im Hinblick auf die abnehmende Hydratation der Ionen

$$\overrightarrow{\text{Li Na K Rb Cs}}.$$

Diese Reihe Li (K Na) Rv Cs, die wir beim Versuch 19 finden, entspricht genau der Hydratation der Ionen, wie sie *Freundlich* (12) S. 81 angibt. Die Hydratation der Alkalikationen beträgt:

Ion	Zahl der Wassermoleküle auf das Ion	Ion	Zahl der Wassermoleküle auf das Ion
Li	120	K	16
Na	66	Rb	14
NH_4	17	Cs	13

Bei einer Konzentration von $^1/_{10}$ n *Alkalisalz ist also die Größe der Hydratation der Gärleistung gegenläufig.* Einer großen Ionenhydratation entspricht also schwache Zelltätigkeit, geringer Hydratation große

Leistung der Zelle. Bei den Anionen liegen die Verhältnisse umgekehrt; die Hydratationsreihe lautet hier:

$\xrightarrow{\qquad\qquad}$
SO_4 Cl Br NO_3 CN S Abnahme der Hydratation [*Fajans* (13), *Frumkin* (14)].

Die Gärleistung steigt in folgender Reihe:

$\xrightarrow{\qquad\qquad}$
SCN Cl NO_3 Br SO_4 Zunahme der Gärung.

Kationen und Anionen verhalten sich demnach umgekehrt hinsichtlich der Beeinflussung der Leistung der Zelle, wenn wir die Größe der Hydratation der Ionen als Vergleichungsmaßstab nehmen.

Nach der obigen Zusammenstellung wechselt Cs, das Endglied der theoretischen Kationenreihe, leicht seinen Platz. Die theoretische Kationreihe finden wir ziemlich gut bei der Gärung in ungepufferter Lösung wieder, während die Behandlung mit Gallensalz bzw. die Pufferung bei Gallensalzgegenwart mehr oder minder inverse Reihen liefert. Welche Reihen als normale anzusprechen sind, müßten neue Versuche lehren. Jedenfalls ist auch bei Kationenversuchen Reihe und Gegenreihe angedeutet.

II. Statische Kationenreihen.

Bei den im vorstehenden beschriebenen Gärversuchen fehlt das Kation NH_4. Es wurde deswegen ausgelassen, weil die Ammonsalze im Verlauf der Gärung zu starker Säuerung Anlaß geben, da durch Ammonsalze neben dem Kohlehydratstoffwechsel der Eiweißstoffwechsel mit aktiviert wird. Dadurch käme eine doppelte Ungleichheit in die Versuchsreihe. (Starke Säuerung und starke Betonung der Eiweißstoffwechsels.) In Anbetracht des hohen Preises der Cäsiumsalze wollte ich also eine derartige innere Ungleichheit der Kationenreihen nicht herbeiführen. Bei anderen Versuchen, ohne Verwendung von Cäsium und Rubidium, ließen sich die notwendigen Ergänzungen mit NH_4 gewinnen.

A. Kationenversuche an Kartoffelzellen.

Die Wirkung der Kationen auf die mehr oder weniger ruhende Kartoffelzelle zeigt sich an folgendem Versuch. Mit Leitungswasser gut gewaschene Kartoffelscheiben kamen in folgende Lösung:

Versuch 20.

1. n NaCSN	4. n KCSN	7. n NH_4CSN
2. n/2 NaCSN	5. n/2 KCSN	8. n/2 NH_4CSN
3. n/3 NaCSN	6. n/3 KCSN	9. n/3 NH_4CSN

Der Grad der Permeabilitätserhöhung wurde mit Hilfe der Ninhydrinprobe und der *Fehling*schen Reaktion in der Lösung festgestellt.

Versuch 20.

Es ergab:

Nr.	Die Ninhydrinprobe nach Stunden			Die Fehlingprobe nach 36 Stunden
	1	3	7	
1	0	+	++	++
2	0	0	+	0
3	0	0	0	0
4	++	+++	++	+
5	+	+++	++	(+)
6	0	(+)	0	0
7	+++	++++	+++	+++
8	++	+++	+++	+
9	0	(+)	0?	0

Die Kationen bewirken also in folgender, scharf betonter Reihe beschleunigten Austritt von Aminosäuren:

$$\overrightarrow{NH_4 \mid K \mid Na}$$ Abnahme der Permeabilitätserhöhung

Natronsalze mit anderen Anionen allein sind wirkungslos; es tritt also der zellöffnende Mechanismus der Rhodanide scharf hervor; ebenso die Tatsache, daß die Wirkung der Salze sich additiv aus der des Anions und Kations zusammensetzen. Ganz ähnliche Wirkung erzielt man bei Verwendung von Hefe: Auf das Austreten von Aminosäuren aus den Zellen als Kriterium einer stark erhöhten Permeabilität und einer meist damit gleichlaufenden Leistungsminderung wurde schon bei Besprechung der Anionen- und Kationenversuche hingewiesen. Die Wirkung der Kationen mit Rhodan als Anion möchte ich noch kurz an folgendem Hefenversuch zeigen.

B. Kationenversuche an Hefe.

Hefe kam nach gutem Waschen in n/5 und n/10 Lösungen der drei Rhodanide, wobei die Schnelligkeit und Stärke des Austritts ninhydrinaktiver Körper ein bequemer Ausdruck der Permeabilitätsänderung der Zelle darstellt. Dieser infolge der Permeabilitätsänderung bewirkte Austrit ninhydrinaktiver Stoffe ist leichter zu beobachten als die z. B. von *Kahho, Fitting* und anderen verwendete Plasmolysemethode zur Feststellung der Wirkung der Salze.

Die bei dem Hefeversuch (10 ccm Hefe in 40 ccm Gesamtlösung) auftretende Wirkung der Kationen ergibt sich aus der folgenden Aufstellung:

Versuch 21.

Hefe in	Ninhydrinprobe nach Stunden	
	7	36
n/5 NH_4CSCN . . .	++	++
n/10 „ . . .	+	++
n/5 KCSCN	+	++
n/10 „ . . .	0	+
n/5 NaCSCN . . .	0	+
n/10 „ . . .	0	0
Kontrolle	0	0

Es ergibt sich aus diesem Versuch dieselbe Kationenreihe abnehmender Permeabilitätserhöhung, wie sie bei der Kartoffel beobachtet wurde:

$$\overrightarrow{NH_4 \mid K \mid Na}$$

Die auch sonst allgemein beobachtete geringere Wirkung der Natriumsalze tritt hier besonders schön hervor. Bei den Hefeversuchen muß ich nun noch auf eine Tatsache besonders hinweisen. *Man kann den Austritt ninhydrinaktiver Körper durch Salze noch viel deutlicher und schneller durch gleichzeitige Zugabe von Zucker erhalten.* Es handelt sich also um recht komplizierte Verhältnisse. Der Zucker kann infolge einer spezifischen Verwandtschaft zum Plasma vielleicht eine Permeabilitätserhöhung an sich schon bewirken, so daß ein erleichterter Austritt von Zellinhaltsstoffen erfolgen kann. Es kann auch bei Zuckergegenwart ein erhöhter Eiweißstoffwechsel eintreten, so daß Eiweißbausteine und Eiweißbruchstücke in größerer Menge vorhanden sind und demgemäß auch leichter und schneller durch Permeabilitätserhöhung zum Herausdiffundieren kommen. Es tritt durch Zuckergegenwart eine *zeitliche* und eine *quantitative* Verstärkung des Austritts ninhydrinaktiver Körper bei der Hefe unter dem Einfluß geeigneter Stoffe ein. Auf diese Zuckerwirkung möchte ich hier kurz durch den folgenden Versuch hinweisen.

Die Zuckerwirkung tritt bei Gegenwart von 0,2 Proz. glykokolsaurem Natrium besonders stark hervor (Nr. 8 bis 11). Man beobachtet auch eine allmählich auftretende Verschiebung je nach dem Anion. Die Anionenreihe zunehmender Permeabilitätserhöhung lautet nach 4 Stunden $SO_4 \mid SCN \mid NO_3$. Bei Zuckermangel (Nr. 12 bis 15) tritt nur bei Gegenwart von Rhodan eine deutliche Ninhydrinreaktion auf. Die Rhodanide nehmen also immer wieder eine Sonderstellung im Sinne ganz besonderer Wirksamkeit ein.

Versuch 22.

Nr.		Ninhydrinreaktion		p_H
		sofort	nach 4 Stdn.	
1	10 ccm Hefe, 20 ccm Wasser, 20 ccm Zucker	0	0	5,55
2	10 „ „ 10 „ H_2O, 10 ccm n NaSCN, 20 ccm Zucker	0	0	
3	10 „ „ 10 „ H_2O, 10 „ n $NaNO_3$, 20 „ „	0	0	
4	10 „ „ 10 „ H_2O, 10 „ n Na_2SO_4 20 „ „	0	(+) Spur	
5	10 „ „ 30 „ H_2O, 10 „ n NaSCN } ohne Zucker	0	0	4,44
6	10 „ „ 30 „ H_2O, 10 „ n $NaNO_3$ } ohne Zucker	0	0	
7	10 „ „ 30 „ H_2O, 10 „ n Na_2SO_4 } ohne Zucker	0	0	
8	10 „ „ 10 „ H_2O, 10 „ 1 proz. Gallensalz, 20 ccm Zucker	0	0	
9	10 „ „ 10 „ 1 proz. Natriumglycocholat, 10 ccm n NaSCN } mit Zucker	++	+++	6,04
10	10 „ „ 10 „ „ „ 10 „ n $NaNO_3$ } mit Zucker	+++	++++	
11	10 „ „ 10 „ „ „ 10 „ n Na_2SO_4 } mit Zucker	++	++	
12	10 „ „ 20 „ H_2O, 10 ccm Gallensalz, 10 ccm H_2O .	0	0	
13	10 „ „ 20 „ H_2O, 10 „ „ 10 „ n NaSCN } ohne Zucker .	0	+	5,95
14	10 „ „ 20 „ H_2O, 10 „ „ 10 „ n $NaNO_3$ } ohne Zucker .	0	0	
15	10 „ „ 20 „ H_2O, 10 „ „ 10 „ n Na_2SO_4 } ohne Zucker .	0	0	

II. Salzwirkung und Tyrosinasefreilauf. Versuch einer Erklärung der Salzwirkung.

Nicht nur die Vergärung des Zuckers durch unverletzte Hefezellen folgt der Anionenreihe $(Br > SO) > Cl > NO_3 > SCN$, sondern auch ein anderer, in Zellen weit verbreiteter Enzymvorgang, nämlich die Tyrosinasewirkung auf Tyrosin. Als Versuchsobjekte dienten entrindete, gleichmäßig zugeschnittene oder mit dem Korkbohrer herausgestanzte Kartoffelstückchen, die in Reagenzgläsern gerade so weit mit der Untersuchungsflüssigkeit übergossen wurden, daß eine etwa 2 mm hohe Flüssigkeitsschicht über den Kartoffelzylindern stand. Durch Verwendung ziemlich hoch konzentrierter Salzlösungen, z. B. n/2, n/3, n bis 4 n, tritt als Folge des Tyrosinasefreilaufs [*Boas* und *Merkenschlager* (15) und *H. O. Diener* (16)] die Tyrosinasetätigkeit ein, die sich in der Bildung sehr verschiedener Farbtöne (Melanine, Prämelanine) ausdrückt; d. h. die Lösungen und die Kartoffelstücke färben sich sehr mannigartig, z. B. hellgelbrot, hellrot, rotbraun, tiefbraun bis blauschwarz. Diese verschiedenen Farbstufen bedeuten, wie *Haehn* (17) mit ganz anderer Methodik und ganz anderer Fragestellung nachgewiesen hat, verschiedene Dispersitätsgrade der gebildeten Melanine. Es ist also methodisch recht leicht, mit Hilfe verschieden stark hydratisierter Salze an Zellvorgängen zahlreiche Dispersitätsgrade hervorzurufen und leicht zu beobachten. Diese Tatsache verdient Beachtung, weil *Jacques Loeb* (10) eine durch Salzwirkung bedingte Dispersitätsgradsänderung zu leugnen versucht, dabei ist dies leicht

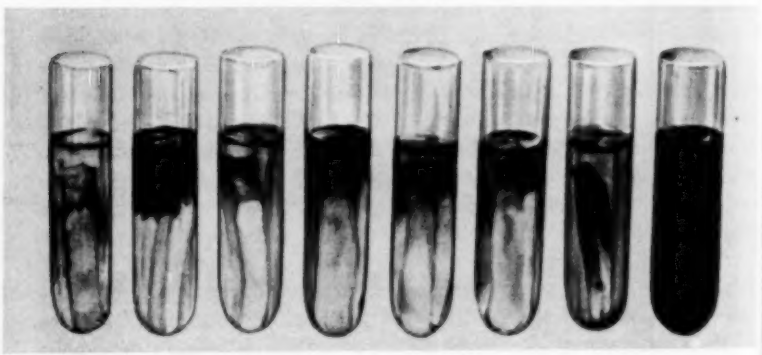


Abb. 5.
Tyrosinasefreilauf in verschiedenen Salzlösungen. Von links nach rechts 1. 4 n $NaNO_3$ hellbraun. 2. 2 n dunkelbraun; 3. n $NaNO_3$ rötlichbraun; 4. Chininsulfat (0,1 proz.) rotbraun; 5. n NH_4NO_3 rotbraun; 6. Chininsulfat nach weiteren 24 Stunden rotviolett; 7. Chininsulfat (0,3 proz.) bläulichschwarz; 8. Chininkakodylat blauschwarz (0,5 proz.). Man beachte, daß die verschiedenen Farbtöne verschiedenen Dispersitätsgraden entsprechen! Bei demselben Salz (Nr. 1 bis 3) erzeugen verschiedene Konzentrationen verschiedene Farbtöne und Dispersitätsgrade!

zu beobachten. Wenn der Kolloidchemiker kolloides Gold zur Demonstration der Dispersitätsgrade verwendet, so kann der Biologe die unter dem Einfluß von Salzen stehende Kartoffeltyrosinase der Kartoffelzellen zur Demonstration benutzen, wie Abb. 5 zeigt.

Bei den zahlreichen Salzversuchen hat sich immer wieder ergeben, daß Sulfate und Ionen mit dehydratisierender, entquellender oder flockender Tendenz, wie z. B. Chinin und seine Derivate einschließlich Chininkakodylat, schnell und intensiv dunkle Melanine in der Kartoffel und in der Lösung entstehen lassen; d. h. Melanine von niedrigem Dispersitätsgrad bilden. Ionen von mäßig flockender oder vielleicht kaum entquellender Tendenz erzeugen heller gefärbte, also höher disperse Melanine. Hierher gehören Chloride und Nitrate. Dagegen treten bei Verwendung stark quellender Anionen, wie der Rhodanide — die Quellung der Kartoffelstücke sieht man mit bloßen Auge ganz deutlich — überhaupt keine Melanine mehr auf. Wir finden also bei dem durch Salze erzwungenen Tyrosinasefreilauf folgende Anionenreihe zunehmender Begünstigung der Tyrosinasewirkung:

$$SCN < Cl < NO_3 < SO_4.$$

In dieser Reihe nimmt weiter der Dispersitätsgrad der gebildeten Melanine ab, während die Hydratation der Ionen zunimmt. SO_4 tritt als absoluter Antipode zum Rhodanion auf.

Eine befriedigende Deutung dieser Anionenreihe scheint folgende zu sein:

Die stark hydratisierten Ionen, wie Sulfat, wirken entquellend auf die an sich im Ruhezustand stark gequollenen Zellkolloide. Mit einer gewissen Dehydratation steigt die Fähigkeit der Adsorption für andere Stoffe an die Kolloidoberfläche; in diesem Falle geht mehr Tyrosin in die Oberfläche, es tritt eine schnellere und stärkere *Tyrosinasewirkung ein*.

Übertragen wir denselben Gedanken auf die *Gärung*. Bei der Gärung geht unter dem Einfluß einer mäßigen Dehydratation mehr Zucker in die Oberflächen, d. h. die Gärung wird stärker, sie setzt auch zeitlich schneller ein.

Analoge Vorgänge können bei der *Gesamtleistung der Zelle* eine Rolle spielen. Demgemäß ist das Wachstum in Gegenwart von dehydratisierenden Ionen wie von Sulfaten intensiver als in Gegenwart von stark hydratisierenden Ionen, wie es die Rhodanide sind.

Mit anderer Ausdrucksweise kann man auch sagen: Die stark hydratisierten Ionen suchen sich noch mehr zu hydratisieren durch Anlagerung neuer Wasserhüllen, dadurch müssen sie aber andere

Stoffe, wie z. B. Zucker oder Tyrosin, geradezu aus der Lösung in die Zellen hineinverdrängen, sie begünstigen die Adsorption anderer Stoffe und damit die Leistung der Zelle.

Umgekehrt drängt Rhodan Wasser und sich selber in die Zelle, es wirkt eigenadsorbierend. Daher werden Zucker und Tyrosin, um bei unseren zwei Beispielen zu bleiben, aus der Zone der Zellwirkung herausverdrängt; die Leistung der Zelle sinkt, weil Rhodan adsorptionshemmend wirkt bzw. zellwichtige Stoffe vom Orte der Wirkung entfernt, also desorptiv wirkt.

Was *Abderhalden* (18) an dem System Blutkohle, Leucin und Salz beobachtete, genau dasselbe findet sich am Gärungs- bzw. am Kartoffelversuch wieder. Setzen wir statt Blutkohle Hefe, statt Leucin Zucker, so haben wir an der Gärungsbeeinflussung durch Salze genau das *Abderhalden*sche Schema wiedergefunden. Ähnliches gilt für den Tyrosinasefreilauf.

Mit dieser kurzen Andeutung ist der Salzeinfluß 1. auf Wirkungen *in der Zelle*, und, was meist vernachlässigt wird, 2. auf Wirkungen zwischen den Ionen und dem Wasser *außerhalb der Zelle* bezogen. Auch *in der Lösung* gehen Vorgänge vor sich, die der Zellarbeit symbat oder antibat sein können.

Zusammengefaßt, lassen sich diese Ausführungen als eine Dehydratationstheorie der *Zelleistung* bezeichnen. *Speck* (19) hat bekanntlich eine Hydratationstheorie der *Entwicklung* propagiert. Seine Ausführungen betreffen besonders die *Zellteilung;* Zellteilung und Gesamtleistung der Zelle müssen aber *nicht* zusammenfallen; außerdem können in der Zelle Hydratations- und Dehydratationsvorgänge nebeneinander hergehen. Es schließt also die eine Theorie die andere nicht aus; es kann ja auch ein Vorgang den anderen völlig überlagern, wie gerade vielleicht Quellungsvorgänge bei der Zellteilung die Zellleistung.

Weiter ist es ja durchaus möglich, daß ein und dasselbe Salz in der Zelle zu gleicher Zeit Hydratations- und Dehydratationsvorgänge bewirkt. Im übrigen verweise ich auf die Versuche 6 und 7, wo Rhodankonzentrationen, die den von *Speck* verwandten sehr nahe kommen, auch eine erhebliche Förderung der Leistung der Zelle bedingen können.

Diese hier entwickelte Anschauung, daß die Zurückführung der Zelleistung auf Adsorptionsvorgänge die beste Erklärung darstellt, scheint mir geradezu sichtbar deutlich aus dem folgenden Methylenblauversuch der Beeinflussung der Gärung durch Methylenblau und Chlornatrium hervorzugehen. Ich wende mich also von der Tyrosinase weg nochmals der Gärung zu.

Die Versuchsanordnung war folgende.

Versuch 23.

1. 10 ccm Hefe, 20 ccm H_2O, 20 ccm 15proz. Würfelzuckerlösung.
2. 10 „ Hefe, 10 ccm 0,6proz. Methylenblau medic., 10 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
3. 10 „ Hefe, 5 ccm Methylenblau medicinale, 15 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
4. 10 „ Hefe, 1 ccm Methylenblau medicinale, 19 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
5. 10 „ Hefe, 0,5 ccm Methylenblau medicinale, 19,5 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
6. 10 „ Hefe, 0,1 ccm Methylenblau medicinale, 19,9 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
7. 10 „ Hefe, 10 ccm n NaCl, 10 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
8. 10 „ Hefe, 10 ccm Methylenblau medicinale, 10 ccm n NaCl, 20 ccm Zuckerlösung.
9. 10 „ Hefe, 5 ccm Methylenblau medicinale, 10 ccm n NaCl, 5 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
10. 10 „ Hefe, 5 ccm Methylenblau medicinale, 5 ccm n NaCl, 10 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
11. 10 „ Hefe, 1 ccm Methylenblau medicinale, 5 ccm n NaCl, 14 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
12. 10 „ Hefe, 0,5 ccm Methylenblau medicinale, 5 ccm n NaCl, 14,5 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
13. 10 „ Hefe, 0,1 ccm Methylenblau medicinale, 5 ccm n NaCl, 14,9 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
14. 10 „ Hefe, 2 ccm Methylenblau medicinale, 5 ccm n Na_2SO_4, 13 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.
15. 10 „ Hefe, 5 ccm n Na_2SO_4, 15 ccm H_2O, 20 ccm Zuckerlösung.

Es wurden entwickelt:

Nr.	g CO_2 nach Stunden					
	2	4	6	8	21	
1	0,11	0,23	0,36	0,46	1,08	Salzarme Vergleichsprobe
2	0,02	0,03	0,05	0,06	0,25	0,12 Proz. Methylenblau med.
3	0,02	0,05	0,07	0,10	0,48	0,06 „ „ „
4	0,08	0,20	0,32	0,40	1,03	0,012 „ „ „
5	0,10	0,19	0,30	0,37	1,00	0,006 „ „ „
6	0,08	0,14	0,25	0,32	0,92	0,0012 „ „ „
7	0,08	0,18	0,33	0,42	1,08	n/5 NaCl
8	0,10	0,20	0,35	0,43	1,10	Methyl-NaCl
9	0,10	0,20	0,35	0,45	1,13	„ NaCl
10	0,11	0,21	0,38	0,56	1,15	„ NaCl
11	0,10	0,18	0,31	0,43	1,06	„ NaCl
12	0,08	0,16	0,33	0,41	1,05	„ NaCl
13	0,09	0,19	0,34	0,44	1,07	„ NaCl
14	0,09	0,19	0,34	0,42	1,02	„ Na_2SO_4
15	0,10	0,18	0,32	0,49	1,04	n/5 Na_2SO_4

Während nach diesem Versuch 0,12 Proz. Methylenblau die Gärung fast ganz unterdrückt, bedingt die Gegenwart von n/5 Chlornatrium (Nr. 8) eine fast völlige Beseitigung der Methylenblauwirkung. Man vergleiche die Nr. 2, 7 und 8. Dasselbe Bild wiederholt sich bei den Nr. 3 und 9. Die durch hohe Methylenblaukonzentrationen bewirkte Gärungshemmung wird durch Zusatz von Chlornatrium geradezu in eine Gärungsförderung verwandelt. [Hinsichtlich der Methylenblauwirkung auf Hefesaft verweise ich auf *Neuberg* und *Ehrlich* (20).]

Es handelt sich bei den Methylenblau-Kochsalzversuchen um eine gegenseitige Adsorptionshemmung, die Gärung verläuft daher, wie wenn Farbstoff und Kochsalz nicht vorhanden wäre. *Unter dem Mikroskop sieht man nun direkt die der Adsorptionshemmung entsprechende Leistung der Zelle an der durch Methylenblau bewirkten Färbung der Hefe.* In Probe 2 mit 0,12 Proz. Methylenblau finden sich am Schluß der Gärung 70,8 Proz. intensiv blau gefärbte Zellen; einer hohen Permeabilität entspricht eine geringe Leistung; das wurde in früheren Versuchen mit der Ninhydrinprobe festgestellt, hier noch einfacher mit der Methylenblaufärbung. Probe 8 dagegen mit ebenfalls 0,12 Proz. Methylenblau, aber gleichzeitig mit n/5 Chlornatrium, enthält nur 23,9 Proz. gefärbte Zellen, das ist ein Unterschied von 46,9 Proz. Hier hemmen sich gegenseitig Farbstoff und Neutralsalz. Die Permeabilität

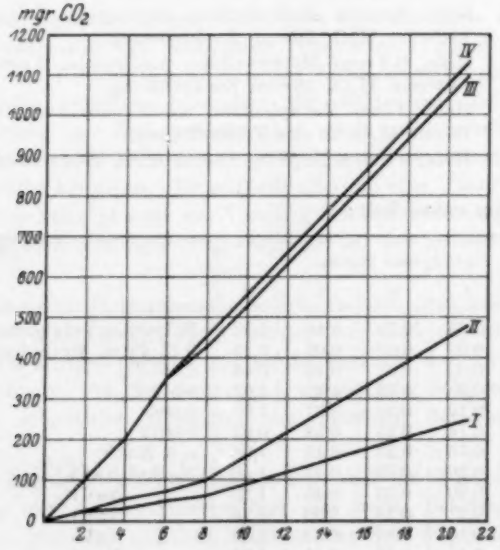


Abb. 6.
Kurvenbild zu Versuch 23.

I. Nr. 2 (0,12 Proz. Methylenblau). | III. Nr. 7 (n/5 Na Cl).
II. Nr. 3 (0,06 Proz. Methylenblau). | IV. Nr. 9 (Methylenblau + Na Cl).

scheint geringer zu sein, trotzdem ist die Leistung der Zelle größer, was uns auf die die Permeabilität weit überwiegende Rolle der Adsorptionsvorgänge hinweist. An der Abb. 6 treten diese Verhältnisse mit plastischer Deutlichkeit hervor.

Auch die Kombination mit Natriumsulfat fügt sich in dieses Bild ein, insofern als die Farbstoffprobe mit Sulfat Nr. 14 die Kontrolle Nr. 15 erreicht, obwohl die hohe Farbstoffmenge eine stärkere Erniedrigung der Gärung erwarten läßt.

Es liegt, wie schon angedeutet, in diesen Farbstoffneutralsalzversuchen auch hier der schon früher oft betonte Gegensatz zwischen stark erhöhter Permeabilität, deren sichtbarer Ausdruck die starke Anfärbung der Zellen ist, und der Leistung der Zelle deutlich vor Augen. Dieser Gegensatz lenkt unser Augenmerk auf die Beziehungen zwischen *Dispersitätsgrads*änderung und *Adsorption*, worauf *Abderhalden* ja besonders hingewiesen hat.

Einen ganz analogen Färbungs- und Adsorptionsversuch mit Methylenblau und n/4 NaCl an Froschhaut beschreibt *E. Wertheimer* (21). Weitere Versuche zur Methylenblauwirkung und Adsorption, namentlich im Hinblick auf die Rhodanwirkung, scheiterten vorerst an der starken Fällungswirkung (Löslichkeitsbehinderung) des Rhodans auf Methylenblau. Ähnliche Beobachtungen verfolgte *Wertheimer* genauer.

Auch auf anderem Wege kommt man zu einem ähnlichen Ergebnis. Man kann Hefe mit Aluminiumsalzen „gerben". [Ich erinnere an die Aluminiumarbeiten von *Fluri* (22) und *Szücs* (23), d. h. die Permeabilität erniedrigen und doch die Leistung der Zelle je nach den zur Wirkung kommenden Anionen deutlich positiv oder negativ beeinflussen.] Dies möchte ich an dem folgenden Aluminiumversuch an Hefe zeigen.

Es wurden 10 ccm Hefe mit 0,5 ccm Aluminiumsulfat (22,2 Aluminiumsalz in 200 ccm H_2O) versetzt und dann den Kolben teils 10 ccm n Na_2SO_4 bzw. NaSCN nach Zugabe von 10 ccm H_2O zugegeben. Mit 20 ccm 20proz. Zuckerlösung wurde auf 50 ccm Gesamtvolumen aufgefüllt.

Versuch 24.

Es wurden entwickelt:

Nr.		g CO_2 nach Stunden			
		$3^1/_2$	$5^1/_4$	$6^1/_2$	$20^1/_2$
1	n/5 Na_2SO_4	0,33	0,56	0,68	1,58
2	n/5 NaSCN	0,25	0,43	0,54	1,33
3	SO_4 + Al	0,30	0,44	0,64	1,49
4	SCN + Al	0,18	0,31	0,37	1,19

In den angewendeten Konzentrationen erniedrigt Aluminiumsulfat meist deutlich die Leistung der Zelle infolge Gerbung, Natriumsulfat unterstützt vielleicht noch diese Wirkung, trotzdem ist die Gärung durch die Kombination Aluminiumsulfat—Natriumsulfat stärker als in der Probe 4 (Aluminiumsulfat—Rhodan), obwohl das quellende Rhodanid der Gerbung entgegenwirken mußte. Es drängen eben die Sulfate infolge ihres Hydra-

tationsbestrebens im Kampf um die Wassermoleküle den Zucker aus der Lösung in die Zelle. Rhodanid wirkt gegensätzlich, es veranlaßt neben einer Kolloidquellung vielleicht sogar eine Vorstufe der Hydrolyse, wichtige Zellbausteine, damit stört es die Absorption und damit die Leistung der Zelle.

So wirken Vorgänge zwischen den Ionen *auch in der Lösung außerhalb der Zelle* im Kampfe ums Wasser und die Vorgänge in der Zelle zusammen, um das aus der Salzbeeinflussung entstandene Bild der Leistung der Zelle zu erklären. Die Grundlage der Deutung liegt also letzten Endes in der Hydratation der Ionen. Die Zurückführung der Zellvorgänge auf die Hydratation der Ionen liegt ja nahe, da Wasser die Grundlage aller Zellvorgänge ist.

Nun nochmals kurz zum Tyrosinasefreilauf! Man kann den Tyrosinasefreilauf nur mit starken Neutralsalzlösungen erzwingen. Es ist nun bemerkenswert, daß man dagegen mit ganz minimalen Mengen von desoxycholsaurem[1]) Natrium leicht Tyrosinasefreilauf erzielen kann, also wohl auf einem ganz anderen Wege der Zellbeeinflussung. Vielleicht ist die arbeitende Stelle durch eine minimale Zone eines Lipoids oder eines anderen Stoffes, auf den gerade Gallensalze besonders leicht einwirken (Lipoid-Eiweißverbindung?), vom Tyrosin getrennt. Es kann neben der Schaffung neuer Kolloidoberflächen auch eine Dispersitätsgradsänderung in Frage kommen. Wie die Deutung auch ausfallen möge: jedenfalls kann man mit ganz minimalen Mengen von desoxycholsauren Salzen Freilauf erzielen. Einen diese Tatsache beweisenden Versuch möchte ich nun anführen und dann das gegen Gallensalz so unterschiedliche Verhalten der Parenchymzellen der Kartoffelknolle von dem der Hefezellen hinsichtlich des Austrittes von leicht nachweisbaren Zellinhaltsstoffen anschließen. Die *Gallensalzmethodik* eignet sich also, um dies hier gleich vorauszuschicken, wohl auch zu einer *Diagnostik des Zellbaues*.

Um die je nach der Zellart eigenartige Wirkung von desoxycholsaurem Natrium schärfer hervortreten zu lassen, bringe ich eine Vergleichung des Gallensalzes mit anderen Lipotropicis, nämlich mit Digitonin und Sapotoxin.

Zu dem öfter wiederholten Versuch wurden gleichmäßig große, gut in fließendem Leitungswasser gewaschene, etwa 3 ccm lange und 0,8 cm dicke Stückchen einer hellroten Kartoffel verwendet. (In anderen Versuchen wurden die Proben mit dem Korkbohrer aus den entrindeten Kartoffeln herausgestanzt.) Die Kartoffelstückchen lagen in 40 ccm Gesamtflüssigkeit.

---

[1]) Für die freundliche Überlassung von Desoxycholsäure bin ich Herrn *C. Neuberg* zu ganz besonderem Dank verbunden.

Versuch 25 mit Kartoffelstücken.

Nr.	Art der Salzlösung (Gesamtvolumen 40 ccm)	Ninhydrinreaktion nach 24 Stdn.	Ninhydrinreaktion nach 72 Stdn.	Ausfall der *Fehling*schen Reaktion	Tyrosinasereaktion	Schlierenbildung
1	10 ccm 0,1 proz. Digitonin + 30 H_2O			0	0	
2	6 „ 0,1 „ „ auf 40 ccm aufgefüllt			0	0	
3	4 „ 0,1 „ „ auf 40 ccm aufgefüllt	0		0	0	
4	2 „ 0,1 „ „ auf 40 ccm aufgefüllt			0	0	
5	1 „ 0,1 „ „ auf 40 ccm aufgefüllt			0	0	
6	4 ccm + 10 ccm n NaCl		0	0	0	
7	20 „ Sapotoxin (2 proz.) + 20 ccm H_2O		(+)	0	0	
8	10 „ „ (2 „) + 30 „ H_2O		0	0	0	
9	5 „ „ (2 „) + 35 „ H_2O		0	0	0	
10	20 „ „ (2 „) + 10 „ NaCl + 10 H_2O	0	(+)	0	0	
11	10 „ „ (2 „) + 10 „ n NaCl + 20 ccm H_2O		0	0	0	
12	5 „ „ (2 „) + 10 „ n NaCl + 25 „ H_2O		0	0	0	
13	10 „ n NaCl + 30 ccm H_2O		0	0	0	
14	1 „ 0,12 proz. Desoxychols. Natrium	++		+	+	+
15	2 ccm Desoxychols. Natrium auf 40 ccm Gesamtvolumen ergänzt	++ — +++		+	+	+
16	3 „ Desoxychols. Natrium auf 40 ccm Gesamtvolumen ergänzt	+++		+	+	++
17	4 „ Desoxychols. Natrium auf 40 ccm Gesamtvolumen ergänzt	+++		+	+	++
18	5 „ Desoxychols. Natrium auf 40 ccm Gesamtvolumen ergänzt	+++		+	+	++
19	6 „ Desoxychols. Natrium auf 40 ccm Gesamtvolumen ergänzt	+++		+	+	++
20	2 ccm + 10 ccm n NaCl + 28 ccm H_2O	++		+	+	—

Unter dem Einfluß des desoxycholsauren Natriums treten drei Erscheinungen auf:

1. Verfärbung der Stücke bzw. Färbung der Flüssigkeit als Folge des Tyrosinasefreilaufs.

2. Es treten infolge starker Erhöhung der Permeabilität Stoffe in die Flüssigkeit aus, nämlich ninhydrinaktive Körper und ferner Zucker (*Fehling*sche Lösung wird reduziert in der Hitze). Auf das Auftreten anderer Stoffe wurde nicht geprüft.

3. Den Austritt von Stoffen aus der Zelle erkennt man schon mit *bloßem Auge*. Infolge der auftretenden Konzentrationsunterschiede in der Außenlösung beobachtet man beim Schütteln intensive *Schlierenbildung*.

Wie bei den Versuchen mit Hefe waren auch die Proben des Kartoffelversuchs am Tage diffus beleuchtet, bei Nacht naturgemäß im Dunkeln.

Es bewirken also schon 0,003 Proz. desoxycholsaures Natrium Tyrosinasefreilauf, ebenso erhöht es schon in sehr kleiner Menge beträchtlich die Durchlässigkeit für Zucker und Aminosäuren. Hingegen sind Digitonin und Sapotoxin unter den Bedingungen des Versuchs so ziemlich wirkungslos. Desoxycholsaures Natrium schließt also eine andere Zellkomponente auf als das ebenfalls mitverwendete lipotrope Saponin und Digitonin.

Diese hier kurz erwähnte Gallensalzwirkung wurde durch andere Versuche bestätigt, wie der folgende Versuch mit einer gelben Kartoffel zeigt.

Versuch 26.

Nr.	Gewaschene Kartoffelscheiben in desoxycholsaurem Natrium		Tyrosinasereaktion	Schlierenbildung
1	0,5 ccm	mit Wasser auf 40 ccm ergänzt	0	0
2	1 „		0	0
3	2 „		(+) ganz minimal	überall deutlich
4	3 „		+ schwach	
5	4 „		+ schwach	
6	5 „		++ stärker	

Bei diesem Versuch mit einer gelben Kartoffelsorte liegt die eben wirksame Konzentration etwas höher als bei vorigem Versuch mit einer roten Kartoffel. Doch ist auch hier desoxycholsaures Natrium in einer Konzentration 1 : 16000 schon wirksam.

Daß sich andere Zellen gegen desoxycholsaures Natrium, das in gleicher Menge zur Verwendung kam wie in Versuch 25, anders verhalten, zeigt die nachfolgend beschriebene Behandlung von Hefe mit desoxycholsaurem Natrium. Hier, bei der Hefe bewirkt es keinen Austritt ninhydrinaktiver Körper.

Im folgenden Hefeversuch wurde vergleichend die Wirkung von Sapotoxin und desoxycholsaurem Natrium zum Teil in Verbindung mit Neutralsalzen untersucht. Das Gesamtvolumen der Untersuchungsflüssigkeit betrug 40 ccm.

Versuch 27.

Es wurden 10 ccm Hefe versetzt:

1. 20 ccm H_2O + 10 ccm 15proz. Zuckerlösung.
2. 5 „ 2proz. Sapotoxin + 15 ccm Wasser mit 10 ccm 15proz. Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
3. 5 „ Sapotoxin + 5 ccm H_2O + 10 ccm n NaCl mit 10 ccm 15proz. Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
4. 5 „ Sapotoxin + 5 ccm H_2O + 10 ccm n $NaNO_3$ mit 10 ccm 15proz. Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
5. 5 „ Sapotoxin + 5 ccm H_2O + 10 ccm Na_2SO_4 mit 10 ccm 15proz. Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
6. 5 „ Sapotoxin + 5 ccm H_2O + 10 ccm n NaSCN mit 10 ccm 15proz. Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
7. 10 „ H_2O + 10 ccm n NaCl mit 10 ccm 15proz. Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
8. 10 „ H_2O + 10 ccm n $NaNO_3$ mit 10 ccm 15proz. Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
9. 10 „ H_2O + 10 ccm n Na_2SO_4 mit 10 ccm 15proz. Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
10. 10 „ H_2O + 10 ccm n NaSCN mit 10 ccm 15proz. Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
11. 19 „ H_2O + 10 ccm desoxycholsaures Natrium durch 10 ccm Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
12. 17 „ H_2O + 3 ccm desoxycholsaures Natrium durch 10 ccm Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
13. 15 „ H_2O + 5 ccm desoxycholsaures Natrium durch 10 ccm Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
14. 9 „ H_2O + 1 ccm desoxycholsaures Natrium + 10 ccm NaCl durch 10 ccm Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
15. 9 „ H_2O + 1 ccm desoxycholsaures Natrium + 10 ccm NaSCN durch 10 ccm Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.
16. 9 „ H_2O + 1 ccm desoxycholsaures Natrium + 10 ccm Na_2SO_4 durch 10 ccm Zuckerlösung auf 40 ccm aufgefüllt.

Die nach 10 Minuten angestellte Ninhydrinprobe ergab:

1.	0	9.	0
2.	0	10.	0
3.	+ blau	11.	0
4.	+++ tiefblau	12.	0
5.	+++	13.	0
6.	++	14.	0
7.	0	15.	0
8.	0		

Die Vergleichung der Kartoffel- und Hefenversuche ergibt einen deutlichen Unterschied im Verhalten der beiden Zellarten gegen desoxycholsaures Natrium und gegen Sapotoxin, namentlich gegen Sapotoxin in Verbindung mit Neutralsalzen. Denn während durch die Kombination Sapotoxin-Neutralsalz bei der Kartoffel kaum ein Heraus-diffundieren von Zucker und Aminosäuren bewirkt wird, bedingt dieselbe Kombination bei der Hefe einen intensiven Austritt ninhydrin-aktiver Stoffe. Hierbei läßt sich wieder deutlich insofern die Anionenreihe steigender Permeabilitätserhöhung $(SO_4Cl) < SCN < NO_3$ erkennen, als Rhodanide und Nitrate eine besonders deutliche Permeabilitätserhöhung anzeigen, was ja in Übereinstimmung mit anderen Versuchen steht.

Die Gallensalz- und Saponinmethode deckt also qualitative und quantitative Unterschiede im Bau der Zelle. Diese Unterschiede lassen sich durch Heranziehung der Ninhydrinprobe, der *Fehling*schen Probe und der Schüttelprobe (Schlierenbildung) bei der Kartoffel bequem zur Anschauung bringen.

III. Das Anionenphänomen und die elektive Wirkung der Anionen auf C-heterotrophe Mikroorganismen [phyletische Anionenreihen [1])].

1. Einfluß von Neutralsalzen auf das Wachstum.

A. Versuche mit Bacterium prodigiosum.

Die Wirkung der Anionen auf Wachstum und Farbstoffbildung läßt sich besonders gut mit Hilfe von Bacterium prodigiosum nachweisen. Zu diesem Zwecke wurde dieser Mikroorganismus in Hefewasser mit 1 Proz. Dextrose und 0,05 Proz. löslicher Stärke bei Gegenwart wechselnder Mengen von Neutralsalzen bei Zimmertemperatur und ohne Ausschließung der durch Tag und Nacht bedingten Beleuchtungsdifferenz kultiviert.

Die Wirkung der Anionen kann gut am Grade des Wachstums und ganz besonders leicht an der Farbstoffbildung abgelesen werden. Um gleich ein Ergebnis vorauszunehmen: am besten war die Farbstoffbildung bei Verwendung von Bromiden und in einer Konzentration von n/4 bis n/10. In dieser Konzentration war Wachstum und Farbstoffbildung im Vergleich mit der salzarmen Kontrolle deutlich gefördert. Aus verschiedenen Versuchen ergibt sich folgende Reihe abnehmenden Wachstums und abnehmender Farbstoffbildung durch Anionenbeeinflussung:

$$Br,\ SO_4,\ NO_3,\ Cl,\ SCN$$

Abnahme des Wachstums und der Farbstoffbildung.

[1]) Auch bei den C-antrotrophen grünen Algen des Süßwassers findet man deutliche Anionenreihen, die jedoch nur teilweise den hier erwähnten entsprechen.

Bei Gegenwart von n/4 Natriumrhodanid findet überhaupt kein Wachstum statt (vgl. die Abb. 7). Es sind also hier Br und SCN absolute physiologische Antipoden; ähnliche Verhältnisse konnten ja gelegentlich auch bei Gärversuchen mit Hefe festgestellt werden.

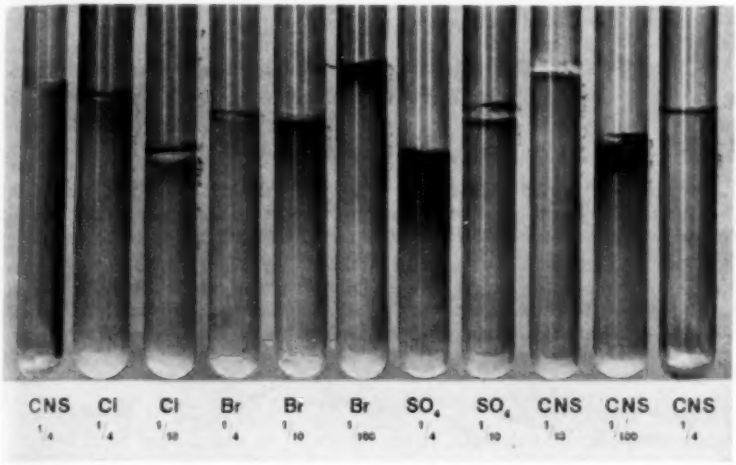


Abb. 7.
Wachstum und Farbstoffbildung des Bacterium prodigiosum in Hefewasser mit Neutralsalzen.
Man vgl. 1/10 NaCl, NaBr, Na_2SO_4, NaSCN und 1/4 NaCl NaBr Na_2SO_4 NaSCN
+ ++ ++ Spur + + + 0!

B. Versuche mit Azotobacter chroococcum.

Den Gegensatz zwischen Brom- und Rhodanion findet man auch recht gut bei Wachstumsversuchen mit Azotobacter angedeutet. Zu diesem Zwecke wurde *Beyerinck*sche Mannitlösung mit Bromiden und Rhodaniden (n/3 bis n/10) versetzt und reichlich mit azotobacterhaltiger Erde geimpft. Aus der Stärke des Wachstums ergab sich ein deutlicher Gegensatz zwischen Brom- und Rhodanion, wie der nebenstehende Versuch zeigt.

Azotobacter-Versuch.

Salzgehalt der Mannitlösung	Wachstum nach 3 Tagen	Wachstum nach 7 Tagen
1/10 NaSCN	+ gut	++ sehr gut
1/4 „	(+) (schwach)	(+) schwach
1/3 „	0	(+) schwach
1/10 NaBr	+++	++++ dicke Haut
1/4 „	++	+++ etwas schwächere Haut
1/3 „	0	+++ etwas schwächere Haut

Es drückt sich also auch bei Azotobacter chroococcum der scharfe Gegensatz Br—SCN aus. Azotobacter, physiologisch ein ganz anderer Typus als Bacterium prodigiosum und wie die Mehrzahl der Bakterien, verhält sich der Wirkung der Anionen gegenüber ganz wie die übrigen Bakterien.

C. Versuche mit Pilzen.

Neben zahlreichen qualitativen Versuchen habe ich mit Cladosporium herbarum quantitative Versuche durchgeführt. Die Gewichte der geernteten Pilzdecken ergaben bei Kultur in Dextrose- (4 proz.)-Hefewasser bei 25° C nach 10 Tagen folgende Werte:

Brom 1040 mg, SO_4 1040 mg, Cl 994 mg und SCN 974 mg, und zwar bei Verwendung von n/4 Natriumsalzen. Die Konzentration n/100 lieferte folgende Werte: Brom 975, SO_4 1019 und SCN 943 mg.

Der Fehler bei diesen Versuchen überstieg 17 mg nicht. Es ergeben sich also sogar unter diesen außerordentlich günstigen Kulturbedingungen in Hefewasser-Dextroselösung, wobei sich bekanntlich Unterschiede leicht verwischen, doch deutlich folgende Anionenreihen abnehmenden Wachstums:

$$(Br,\ SO_4) > Cl > SCN.$$

Der ganze Versuch verlief unter sehr gleichmäßigen Bedingungen, auch wird die Wasserstoffionenkonzentration durch die Stoffwechseltätigkeit von Cladosporium wenig geändert. Es betrug z. B. je nach dem verwendeten Salze und der Konzentration:

p_H am Anfang des Versuchs 7,10 bis 7,30,
p_H „ Ende „ „ 6,10 „ 6,40.

Bei Verwendung weniger günstiger Nährlösungen treten viel schärfer ausgesprochene Ionenwirkungen auf, wie ich hier nur andeuten möchte. Ähnliche Erntewerte und entsprechende Reihen wurden bei Verwendung von Fusarium gefunden. Sehr scharf ausgeprägte Anionenreihen lieferte Aspergillus niger. Es ist also — Aspergillus niger bildet ja bedeutende Säuremengen, Cladosporium nur Spuren — *die Reaktion der Außenlösung recht bedeutungslos für das gesamte Ergebnis.*

2. Das Anionphänomen in elektiver Kultur.

Der Gegensatz $\binom{Br}{SO_4} \leftrightarrow SCN$ drückt sich, wie die vorstehenden Versuche zeigen, in *Reinkulturen* recht deutlich aus. Dieser Gegensatz wird nun aber in *Mischkulturen* zu einer bequemen Trennung des Stammes der Pilze von dem der Bakterien verwendbar. *In Mischkulturen hemmen nämlich schon relativ geringe Mengen von Rhodaniden die Entwicklung von Bakterien, ohne dabei das Pilzwachstum ernstlich*

zu gefährden. So werden die Anionenreihen zu einer Art phyletischen Reagens auf die heterotrophen Bakterien und Pilze.

Statt einer langen Erörterung verweise ich auf folgenden Versuch. Als Nährlösung diente zuckerhaltiges Hefewasser, das bekanntlich sowohl durch seine Zusammensetzung als auch durch seine Reaktion das Wachstum heterotropher Mikroorganismen sehr begünstigt. Es wurden 30 ccm Hefewasser mit genau 1 Proz. Zucker (gleiche Teile Dextrose und Saccharose, die Konzentration von 1 Proz. bezieht sich auf das Endvolumen von 40 ccm) mit 10 ccm der Normallösungen von Na Br, Na Cl, $NaNO_3$, Na SCN, Na_2SO_4, KSCN, NH_4SCN und $CaCl_2$ bzw. mit Mischungen dieser Salze mit Na SCN im Verhältnis 1 : 1 versetzt. Diese 40 ccm Hefewassersalzmischung wurde mit 1 ccm einer an Mikroorganismen äußerst reichen Aufschlemmung, bestehend aus Erde, großen Mengen von alten Bakterienkulturen, von Kulturen von Mucor racemosus, Rhizopus nigricans, Dematium, Absidia glauca + und —, Penicillium und anderen geimpft.

Die geimpften Proben standen, um auch noch Infektionen anderer Art zu ermöglichen, in offenen Glaszylindern im Laboratorium und waren dem Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzt.

Bereits nach 16 bis 20 Stunden zeigte sich ein auch äußerlich sehr verschiedenartiges Wachstum in den einzelnen Proben. Ein Teil der Kulturen hatte sich mehr oder minder stark getrübt, andere Kulturen blieben hell und durchsichtig. Trüb waren die mit Bromiden, Sulfaten, Chloriden und Nitraten versetzten Lösungen, die mit Rhodaniden behandelten Kulturen erschienen je nach der verwendeten Salzmenge völlig klar oder doch wesentlich klarer. Es trat also bereits nach ganz kurzer Zeit scharf folgender Anionengegensatz hervor: $\begin{pmatrix} Br, Cl, NO_3 \\ SO_4 \end{pmatrix} \longrightarrow SCN$.

Bevor ich auf den allein ausschlaggebenden mikroskopischen Befund eingehe, will ich nach dem Grade der Trübung das äußere Erscheinungsbild der einzelnen Kulturen kurz beschreiben.

Verwendetes Neutralsalz	Aussehen der Kulturen nach		
	20 Stunden	44 Stunden	72 Stunden
n/4 Na Br	trüb	intensiv trüb	sehr trüb, Gärung
n/4 Na Cl	„		sehr trüb, Gärung schwächer
$NaNO_3$	„		
Na_2SO_4	„		
Na SCN	fast ganz klar	fast klar	klar, reichlich Pilzflocken
KSCN	klar	klar, am Grunde Pilzflocken	
NH_4SCN	„	klar, Pilzflocken	
$CaCl_2$	Niederschlag	trüb	gärt
$NaNO_3 + Na SCN$.	klar	fast ganz klar	spurenweise Trübung, viele Pilzflocken
$NaCl + Na SCN$ . .	„		
$CaCl_2 + Na SCN$ . .	milchig		schwach trüb

Die mikroskopische Untersuchung dieser schon äußerlich sehr verschieden aussehenden Kulturen ergab nun auch bei häufiger Wiederholung derselben Versuche unter verschiedener Variation der Methodik immer ein höchst bezeichnendes Bild einer elektiven Ionenwirkung auf Pilze und Bakterien. In der nachstehenden Zusammenstellung des Befundes der mikroskopischen Untersuchung der eben äußerlich beschriebenen Versuchsreihe tritt diese elektive Anionenwirkung mit aller Deutlichkeit hervor.

Konzentration des verwendeten Neutralsalzes in der Kultur	Art und Mengenverhältnis der entwickelten Mikroorganismen
	A. Trübe Kulturen.
n/4 NaBr	*Massenhaft Bakterien*, gelegentlich eine „Hefe"zelle*)
n/4 NaCl	*Fast nur Bakterien*
n/4 Na_2SO_4	*Massenhaft Bakterien*, selten eine Hefezelle
n/4 $NaNO_3$	*Massenhaft Bakterien*, auch einzelne Mycelien von Pilzen vorhanden
	B. Klare Kulturen.
n/4 NaSCN	Decke bestehend aus Penicillium, Mucor racemosus, Rhizopus und Oidium lactis (Oospora); submers große Mycelflocken von Mucor racemosus, ganz vereinzelt Bakterien, sonst *massenhaft Pilze entwickelt*
n/4 KSCN	*Starkes Pilzwachstum*, Kugelhefen von Mucor racemosus, „Hefen" aller Art, *keine Bakterien*
n/4 NH_4SCN . . .	
	C. Mischkulturen verschiedenen Trübungsgrades.
$NaNO_3 + NaSCN$.	*Bakterien aller Art*, darunter Riesenlangstäbchen **), *reichlich Pilze*, „Hefen" und Kugelhefe von Mucor racemosus
$NaCl + NaSCN$ . .	
$CaCl_2 + NaSCN$. .	*Starkes Pilzwachstum*; Mucor, Kugelhefe von Mucor racemosus, „Hefen", wenig Bakterien

*) Unter „Hefen" ist nicht die Gattung Saccharomyces-Hefe zu verstehen, sondern es handelt sich um hefenähnliche Sproßformen von Dematium, Mycoderma und anderen ähnlichen weit verbreiteten Organismen.

**) Vielleicht auch Involutionsformen dabei; ich erinnere vergleichsweise an von *Eisler* (27).

Einen anderen Versuch möchte ich nur in aller Kürze wiedergeben, obwohl er eine Reihe nicht unwichtiger Beobachtungen enthält.

Zusammensetzung der Nährlösung: Hefewasser mit 2 Proz. Zucker, zur Hälfte je aus Dextrose und Saccharose bestehend.

Neutralsalzgehalt der Kultur	Trübungsgrad, Elektionswirkung nach 48 Stunden
∅. Kontrolle. p_H 6,72 .	Trüb. *Massenhaft Bakterien*
n/4 KSCN. p_H 6,59 . .	Klar. Submers Pilzflocken, Decke aus Oidium, „Hefen". *Nur Pilze*
n/8 KSCN	Schwach trüb, neben Bakterien *viele Pilze*
n/4, n/8, n/13 $CaCl_2$ . . .	Trüb, neben *Bakterien viele Pilze*
n/4 $MgCl_2$. p_H 6,00 . . .	Trüb, Pilzdecke, Mucor auffallend gefördert
n/8 KSCN + n/8 $CaCl_2$.	Klar, dünne *Pilzdecke*, reichlich Mucor vorhanden, kaum Bakterien
n/8 KSCN + n/8 $MgCl_2$.	Klar, *Pilzdecke* aus Kahmpilzen (Mycoderma) bestehend. Diese Decken brechen leicht durch und verursachen dann Hefentrübungen
n/26 KSCN + n/8 $MgCl_2$ + n/8 $CaCl_2$	*Glashell*, submers *reiches Pilzwachstum*, dünne Decke, Hefegärung
n/20 KSCN + n/13 $MgCl_2$ + n/13 $CaCl_2$	Fast klar, *Pilze* und wenig Bakterien vorhanden

In beiden Versuchen unterdrücken stärkere Konzentrationen der Alkalirhodanide jegliches Bakterienwachstum, ohne das der Pilze nennenswert zu hemmen. Diese *phyletisch* elektive Wirkung des Rhodans auf Pilze ist mit der Sterilisationswirkung, die *Edinger* (24) und *Müller* (25) mit Chinolinbenzoylrhodanid und o-Oxychinmethylrhodanid sowie *Edinger* und *Clemens* (26) mit Chinolinwismutrhodanid feststellten, natürlich nicht identisch, das möchte ich hier kurz betonen.

Es wirken also die Anionen teils intensiv bakterien-, teils intensiv pilzfördernd; ausgesprochen bakteriotrop wirken Br, SO_4Cl; intensiv bakteriophob wirkt SCN; eine schwach betonte Mittelstellung nimmt NO_3 ein, es ist zwar stark bakteriotrop, doch läßt es auch Pilzwachstum in stärkerem Maße zu als die *einseitig elektiv* auf Bakterien günstig wirkenden Anionen Br, SO_4 und Cl. Das nebenbei mit verwendete *Calciumchlorid scheint in Kombination mit Rhodanid die Rhodanwirkungen zu unterstützen. Der Antagonismus zwischen dem einwertigen Rhodan einerseits und den ein- und zweiwertigen Ionen, wie Br, SO_4, Cl und Ca geht aus dem äußeren und dem mikroskopischen Befund deutlich hervor.*

Die bakterienhemmende Wirkung der Rhodanide steigt in folgender Kationenreihe:

$$\text{Na K } NH_4 \text{ Ca} \longrightarrow$$

Demnach wirkt Calciumrhodanid intensiv bakteriophob. (Nebenwirkung von Zersetzungsprodukten des Calciumrhodanids, Schwefelwirkung?)

Bei der Erwähnung dieser hier nur ganz flüchtig angedeuteten Kationenreihe erhebt sich die Frage, welches Kation die dem Rhodananion entsprechende bakteriophobe Wirkung ausübt. Einige Elektions-

versuche deuten darauf hin, daß unter den einwertigen Kationen Cäsium einigermaßen die Rolle des Rhodans übernehmen kann.

Anionenversuche, wie der oben beschriebene, wurden mit den verschiedensten Kulturmedien[1]) immer mit dem gleichen Ergebnis wiederholt. *Die Anionenversuche* sind also bei Verwendung genügend hoher Salzkonzentrationen *leicht und sicher reproduzierbar.* Die hervorragend elektive Wirkung der Anionen ist auf Abb. 8 scharf zu erkennen.

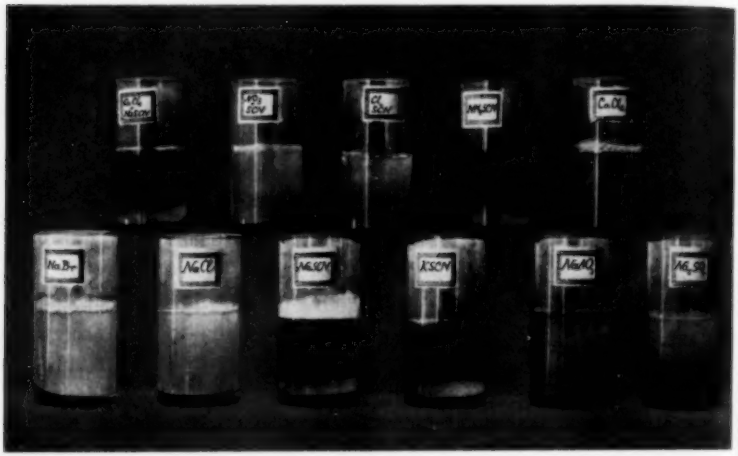


Abb. 8.

In rhodanhaltigen Nährlösungen entwickeln sich Pilze, die Lösungen erscheinen daher klar. Die weiße Haut in der Natriumrhodanidprobe stellt einen Rahmpilz (Mycoderma) dar. Man beachte den Ionengegensatz zwischen $Ca^{\cdot\cdot}$ und Rhodan und den weniger deutlichen Gegensatz. Zwischen NO_3 bzw. Cl und Rhodan, die Trübung rührt zum Teil nur von Mycoderma her.

Worauf namentlich die Wirkung des Rhodanions beruht, ist vorerst schwer zu entscheiden. Es kann außer einer Quellung der Membran der Bakterien eine kolloidchemische und chemische Wirkung auf das Eiweiß und die Lipoide vorliegen. Viele Bakterien scheinen nach *Windaus* sterinarm zu sein; bei vielen Pilzen ist ein großer Lipoidreichtum weit verbreitet.

Mit Hilfe der Anionenwirkung lassen sich, wenn ich die Ergebnisse dieses dritten Teiles zusammenfasse, aus Pilzen und Bakterien bestehende Organismengemische voneinander trennen. Wir erhalten je nach der

[1]) Ich verweise auf meine demnächst erscheinende Arbeit „Aus Kolloidlehre und Pflanzenphysiologie", wo ich ausführlicher auf das Anionenphänomen eingehe. Verlag Dr. F. P. Datterer-Freising. Sammlung Naturwissenschaft und Landwirtschaft.

das Pilz- oder Bakterienwachstum mehr oder weniger fördernden Wirkung folgende Anionenreihen:

$$\underset{\text{mykotrope Anionenreihe}}{\overrightarrow{Br,\ SO_4,\ Cl,\ NO_3,\ SCN}}$$

$$\underset{\text{bakteriotrope Anionenreihe}}{\overrightarrow{SCN,\ NO_3,\ Cl,\ SO_4,\ Br}}$$

Bei der bakteriotropen Reihe sind die beiden Endglieder Br und SCN in genügend hoher Konzentration absolute physiologische Antipoden, demgemäß kann z. B. in einer Konzentration von n/4 NaBr das Pilzwachstum zugunsten des Bakterienwachstums völlig unterdrückt werden; die Umkehrung dieser Tatsache finden wir bei der Wirkung des Rhodanions.

Die alten *Hofmeister*schen Anionenreihen erhalten durch die vorstehend angeführten Beobachtungen eine neue Beleuchtung. Wir können die Anionen zur Trennung zweier großer Stämme des Gewächsreiches zur Trennung der Bakterien von Pilzen verwenden und daher in diesem Sinne neben chemischen Anionenreihen auch mit einem gewissen Rechte von *phyletisch verwertbaren Anionenreihen* sprechen.

Die Weiterbehandlung der Rhodanfrage behält sich das Botanische Institut in Weihenstephan vor. Die medizinisch-hygienische Bearbeitung hat das Veterinärpolizeiliche Institut in Schleißheim (Direktor Dr. *Ernst* und Dr. *Drescher*) übernommen.

Für freundliche opferwillige Unterstützung sei Herrn Dr. h. c. *R. Weyermann* in Bamberg aufrichtiger Dank gesagt. Ohne seine Hilfe hätten so zahlreiche vergleichende Versuche nicht ausgeführt werden können.

Literatur.

1) *H. Fitting*, Jahrb. wiss. Bot. **65**, 1ff., 1915. — 2) *H. Kahho*, Ergebn. d. Biol. 1926, S. 1380ff.; ferner diese Zeitschr. **117**, **120**, **122**; sowie „Über die physiologische Wirkung der Neutralsalze auf das Pflanzenplasma, Universitatis Dorpatensis instituti botanici opera, Nr. 18"; Dorpat 1924. In allen Arbeiten zahlreiche Literaturhinweise. — 3) *H. Walter*. Jahrb. wiss. Bot. **62**, 145ff., 1923. Ferner: Der Wasserhaushalt der Pflanzen in quantitativer Hinsicht, Heft 6 der Sammlung Naturwissenschaft und Landwirtschaft, Freising. — 4) *J. R. Katz*, Kolloidchem. Zeitschr. **9**, 1ff., 1918. — 5) *R. Höber*, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, 5. Aufl., 1922/24. — 6) *H. Lappaleinen*, Öfversigt af Finska Vetensk-Societ. Förhandl. 62, Afd. A., Nr. 1, 1919. Auch einzeln: Biochemische Studien an Aspergillus niger, Helsingfors 1919. — 7) *F. Boas*, diese Zeitschr. **117**, 166ff, 1921; **129**, 144ff., 1922 (Gallensalze betreffend) und Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **39**, 1921; **40**, 249, 1922. — 8) *A. Tröndle*, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **27**, 71, 1909; Jahrb. wiss. Bot. **48**, 171, 1910. — 8a) *L. Brauner*, Zeitschr. f. Botanik **14**, 497, 1922. — 9) *E. Goldenberg*, Pflügers Arch. d. ges. Physiol. **205**, 338, 1924. — 10) *Jaqu. Loeb*, Die Eiweißkörper. Berlin,

Springer, 1924. — 11) *Halle, Loewenstin* und *Pribram*, diese Zeitschr. **55**, 357, 1913. — 12) *H. Freundlich*, Kapillarchemie, 2. Aufl., 1922. — 13) *Fajans*, Die Naturwissenschaften **9**, 729, 1921. — 14) *Frumkin*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **109**, 34, 1924. — 15) *F. Boas* und *F. Merkenschlager*, diese Zeitschr. **155**, 197, 1925. — 16) *H. O. Diener*, Bot. Arch., Septemberheft 1926. — 17) *Haehn*, diese Zeitschr. **105**, 191, 1920. — 18) *E. Abderhalden*, Lehrb. d. physiol. Chem. 2. Teil, 1923. — 19) *J. Spek*, Kolloidchem. Beihefte 1920. — 20) *C. Neuberg* und *M. Ehrlich*, diese Zeitschr. **101**, 299, 1920. — 21) *E. Wertheimer*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **202**, 382, 1924. — 22) *M. Fluri*, Flora **99**, 81, 1908. — 23) *J. Scücs*, Jahrb. wiss. Bot. **52**, 269, 1913. — 24) *A. Edinger*, Ber. d. Freiburger Naturforsch. Ges., **9**, Heft 3, 1894. — 25) *A. Müller*, Bakt. Centralbl. I, **17**, 705ff., 1895. — 26) *A. Edinger* und *P. Clemens*, Zeitschr. f. klin. Med. **59**, Heft 2/4. Hier auch zahlreiche Hinweise auf die Rhodanliteratur. — 27) *von Eisler*, Bakt. Centralbl. I, **51**, 546, 1909.

Über die Beziehungen des Kreatins zum Eiweiß- und Kohlehydratstoffwechsel.

Von

Fritz Lieben und **Daniel László.**

(Aus der Abteilung für physiologische Chemie im Wiener Physiologischen Universitäts-Institut.)

Ausgeführt mit Unterstützung der Seegenstiftung der Akademie der Wissenschaften in Wien.

(Eingegangen am 14. Juli 1926.)

I. Einleitung und Fragestellung.

In der gewaltigen Literatur, die die Kreatinfrage behandelt, fällt eine interessante Arbeit von *Stanley Benedict* und *Osterberg*[1]) auf, in der die Autoren zu zeigen versuchen: die Kreatinausscheidung stehe in keinerlei Zusammenhang mit dem Gewebszerfall, der Stoffwechsel dieser Substanz stehe vielmehr in direkter Beziehung „zu gewissen Prozessen", unter denen die Ausnutzung der Kohlehydrate der wichtigste sei. Diese Ansicht stützen sie vor allem auf folgenden Versuch. Bei mit Phlorrhizin behandelten Hunden ist die Zuckerausscheidung von einer erhöhten Ausscheidung an Gesamt-N und Kreatin begleitet. Nun läßt sich der Verlust an Gesamt-N zum Teil oder mitunter vollständig durch Zufuhr von exogenem Eiweiß unterdrücken; stammt nun das Harnkreatin aus dem Zerfall des Muskelgewebes, so müßte bei Schonung dieses Gewebes (bzw. bei Hemmung seines Zerfalls) auch die Kreatinausscheidung zurückgehen; tritt aber diese Wirkung nicht ein, so müßte man schließen, daß das stets in reicher Menge gebildete Kreatin, das sonst vom Körper „ausgenützt" oder zerstört wird, im Phlorrhizindiabetes — zugleich mit der Störung des Kohlehydratstoffwechsels — auch in seiner „Nutzbarmachung" gehemmt sei und ungenützt ausgeschieden werde. Da nun der Versuch ergab, daß auch nach wieder-

[1]) *St. Benedict* und *E. Osterberg*, Journ. of biol. Chem. **18**. 195, 1914.

erreichtem N-Gleichgewicht die erhöhte Kreatinausscheidung anhält, so ziehen die amerikanischen Forscher den eingangs erwähnten Schluß. Es ist klar, daß dieser Schluß, der sich allerdings nur auf das *Harnkreatin* bezieht, das bekannte *Schema von Lafayette Mendel* für den Kreatinstoffwechsel ungültig machen würde, und daß er an Stelle dieses, zwar nicht alle Fragen beantwortenden, aber doch übersichtlichen und chemisch verständlichen Schemas, wenig klare Beziehungen „zu gewissen Prozessen", vor allem zur Nutzbarmachung der Kohlehydrate setzt; auch ist nicht recht verständlich, was man sich unter der „Nutzbarmachung" des Kreatins vorstellen soll, während natürlich die Möglichkeit der Zerstörung desselben im Stoffwechsel ohne weiteres gegeben ist.

Dieser Sachverhalt veranlaßte uns, die Frage nach den Beziehungen der Kreatinkörper im Stoffwechsel und nach ihrem Ursprung wieder aufzunehmen, zumal die Arbeit von *Benedict* und *Osterberg* einige neue Fragestellungen anregte.

Berechnet man etwa aus der täglichen durchschnittlichen N-Ausscheidung unter verschiedenen Bedingungen (Hunger, N-Gleichgewicht usw.), den täglichen Eiweißzerfall, daraus die täglich aus dem Eiweißkomplex losgelöste *Argininmenge* — Arginin wird ja bisher immer noch als die wahrscheinlichste Muttersubstanz des Kreatins angesehen —, und berechnet man andererseits approximativ aus der im Durchschnitt pro Tag ausgeschiedenen Kreatinmenge diejenige Kreatinmenge, die pro Tag im Körper entstehen müßte (auf Grund der experimentell feststellbaren Ausscheidungsquote), so ergibt sich die Frage, ob nach dieser Berechnung die losgelöste Argininmenge überhaupt ausreicht, um das entstandene Kreatin zu decken? Sollte das nicht der Fall sein, so wäre das ein weiteres Argument *gegen* das *Mendel*sche Schema. Man könnte weiter fragen, ob auch andere, nicht zu schwere Eingriffe in den Kohlehydratstoffwechsel, bei denen das Tier im N-Gleichgewicht verbleiben könnte, wie z. B. eine *alimentäre Glykosurie* einen Einfluß auf den Kreatinstoffwechsel zeitigen würde? Schließlich konnte man, wenn wirklich (nach *Benedict*) das Tier im Phlorrhizindiabetes die Fähigkeit verliert, Kreatin anderweitig zu verwenden, hoffen, während dieser ausgiebigen Kreatinausschüttung — mochte sie im übrigen mit dem Eiweiß oder Kohlehydratstoffwechsel zusammenhängen — den sonst *niemals deutlich* wahrnehmbaren Einfluß von vermutlichen Muttersubstanzen des Kreatins, wie Arginin, Methylguanidin usw. endlich auftreten zu sehen, wenn man solche Substanzen per os oder subkutan in genügender, aber unschädlicher Menge zuführt.

Zur Beantwortung dieser Fragen und weiterer, die sich im Laufe der Arbeit ergaben, wurden die folgenden Versuche an Hunden angestellt. Eine gesonderte Betrachtung des Kreatin- und des Kreatininstoffwechsels soll hierbei *nicht* vorgenommen werden; die Zusammengehörigkeit und

enge genetische Abhängigkeit dieser Stoffe ist ja erst kürzlich wieder durch Versuche von *Chanutin*[1]) überzeugend dargetan worden.

Die Tiere erhielten als Ausgangsnahrung gut ausgekochte Kuttelflecke, die nach der Methode von *Folin* auf ihren Gehalt an Gesamtkreatinin wiederholt geprüft und *frei von Kreatinkörpern* befunden worden war. Auch zur Bestimmung des präformierten, sowie des Gesamtkreatinins im Harn bedienten wir uns der bekannten *Folin*schen Methode (beschrieben in Hoppe-Seylers und Thierfelders Handb., 9. Aufl., 1924, S. 706 ff), die Kolorimetrie erfolgte mit dem Kolorimeter von *Autenrieth-Königsberger*; der Keil wurde von uns mit Hilfe einer reinen Kreatininlösung (Kreatinin von *Schuchardt*) geeicht. Bei jeder einzelnen Bestimmung wurden mindestens sechs Ablesungen vorgenommen und aus ihnen der Mittelwert berechnet.

II. Orientierungsversuche.

Die folgenden, auszugsweise wiedergegebenen Orientierungsversuche dienten dazu, uns über die Kreatinkörperausscheidung und Ausscheidung an Gesamt-N unter dem *Einfluß verschiedener Nahrungsmengen*, eventuell vollständigen *Nahrungsentzuges*, sowie über eventuelle Zusammenhänge zwischen Kreatin- und Gesamt-N-Ausscheidung bei länger dauernder Beobachtung zu informieren. Die Tiere erhielten als Zulage zu den Kuttelflecken zunächst eine Portion Halbemmentaler Käse (der als kreatinfrei befunden wurde), ferner, da sie im Käfig freiwillig zu wenig Wasser zu sich nahmen, eine Infusion von 200 bis 300 ccm Wasser mittels Schlundsonde, um das Harnvolumen zu vergrößern. Der Harn wurde stets unter Toluol aufgefangen.

Wir sehen aus den Tabellen I und II, daß die Werte für das Gesamtkreatinin und präformierte Kreatinin, nachdem das Tier auf die kreatinfreie Kost eingestellt ist, nur selten größeren Schwankungen unterliegen, bzw. daß solche, wenn sie auftreten, meist am nächsten Tage kompensiert werden. Die Differenz zwischen dem gesamten und präformierten Kreatinin ist im allgemeinen nicht groß, oft sind die Werte gleich [bzw. der erste Wert innerhalb der Versuchsfehler kleiner[2])]. Variationen in der Nahrungszufuhr machen sich nur wenig geltend; bei Nahrungsentzug tritt sehr langsam ein Absinken des Kreatinkörperwertes ein.

Aus der Tatsache, daß 100 g feuchte Kuttelflecke 2,67 g N und 50 g Käse 2,34 g N enthalten, kann man die N-Einnahme während der einzelnen

[1]) *A. Chanutin*, Journ. of biol. Chem. **67**, 29, 1925.

[2]) Größere Fehler sind bisweilen dadurch unterlaufen, daß beim Erhitzen mit HCl nach *Folin* etwas Kreatin zerstört wurde. Wir nehmen an, daß in diesen Fällen der Wert für das Gesamtkreatin dem für das präformierte ungefähr gleich ist.

Tabelle I. Hund 1, ♂.

Das Tier war seit 24. X. 1925 im Käfig, wurde bis 28. X. bei gemischter Kost, ab 29. X. bei *300 g ausgekochten Kuttelflecken und 50 g Halbemmentaler Käse* in bezug auf die in der Tabelle angeführten Daten beobachtet.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges. Kreatininmenge mg	Präform. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Bemerkungen
3. XI.	300 g Kuttelfl. + 50 g Käse	10,35	195	402	339	8,9 8,3	Infusion von 200 ccm Wasser
4. XI.	Ebenso	—	410	435	435	9,2 9,1	Infusion von 300 ccm Wasser
5. XI.	„	—	440	449	431	8,9 8,9	Infusion von 150 ccm Wasser
6. XI.	„	10,20	340	476	476	10,6 9,9	Infusion von 300 ccm Wasser
7. XI.	„	—	430	387	396	7,8 8,4	Ebenso
8. XI.	„	10,00	520	—	385	10,8 10,8	Keine Infusion
9. XI.	„	—	100	—	173	3,8 3,8	Infusion von 300 ccm Wasser
10. XI.	„	10,00	800	544	496	10,2 10,1	Ebenso
11. XI.	300 g Kuttelfl. ohne Käse	10,20	620	508	434	5,5 5,6	Vom Futter vom 10. nur 150 g Kuttelfl. und 10 g Käse gefressen. Keine Inf.
12. XI.	Ebenso	—	620	496	434	4,3 4,3	Vom Futter vom 11. nur 125 g Kuttelfl. gefress. Keine Inf.
13. XI.	Kein Futter	9,75	190	190	156	1,6 1,6	Vom Futter vom 12. nur 80 g gefressen. Infusion v. 300 ccm Wasser
14. XI.	Ebenso	9,70	460	497	395	4,3 4,6	Infusion von 300 ccm Wasser
15. XI.	„	—	540	443	378	4,8 4,8	Keine Infusion
16. XI.	„	9,35	230	235	212	1,5 1,5	Ebenso
17. XI.	„	9,25	530	191	201	1,8 1,8	Infusion von 300 ccm Wasser
18. XI.	100 g Kuttelfl.	9,20	240	293	293	3,8 3,8	Ebenso
19. XI.	300 g „	9,10	500	530	460	7,0 6,9	„
20. XI.	200 g „	9,20	500	—	400	6,4 6,3	„
21. XI.	Gemischt. Futter	9,00	490	461	372	5,5 5,6	—

Tabelle II. Hund 2, ♀.

Das Tier war ab 29. X. bei 300 g Kuttelflecken, ab 30. X. mit einer Zulage von 50 g Käse im Käfig.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges Kreatininmenge mg	Präform. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Bemerkungen
3. XI.	300 g Kuttelfl. + 50 g Käse	12,45	495	645	505	12,6 12,3	Infusion von 300 ccm Wasser
4. XI.	Ebenso	—	370	422	355	7,5 7,4	Ebenso
5. XI.	"	—	505	505	465	8,9 8,3	"
6. XI.	"	12,40	290	331	336	5,8 6,0	Infusion von 300 ccm Wasser. Käse vom 5. zum Teil stehengelassen
7. XI.	300 g Kuttelfl. ohne Käse	12,40	315	334	277	4,2 4,1	Infusion von 300 ccm Wasser. Käse vom 6. zum Teil stehengelassen, erbrochen
8. XI.	Ebenso	12,20	605	496	351	8,8 8,7	Keine Infusion
9. XI.	"	—	320	—	544	10,7 10,6	Infusion von 300 ccm Wasser
10. XI.	"	11,85	375	323	270	5,1 5,1	Ebenso
11. XI.	"	12,40	440	317	273	3,8 3,8	"
12. XI.	"	—	640	816	666	10,1 9,9	Keine Infusion
13. XI.	400 g Kuttelfl.	12,00	175	297	315	5,0 5,0	Iniusion von 300 ccm Wasser
14. XI.	Ebenso	12,30	340	238	245	2,8 2,8	Ebenso
15. XI.	"	—	620	508	496	13,0 13,0	Keine Infusion
16. XI.	"	12,20	420	546	521	11,6 11,6	Infusion von 300 ccm Wasser
17. XI.	"	11,95	440	308	326	6,3 6,3	Infusion von 300 ccm Wasser. Futter v. 16. erbroch., nichts mehr gefressen
18. XI.	300 g Kuttelfl.	12,10	320	—	243	3,7 3,7	Vom Futter vom 17. 365 g gefressen. Infusion von 300 ccm Wasser
19. XI.	"	11,95	520	177	187	6,3 6,3	Vom Futter vom 18. 270 g gefressen. Harn riecht fäkal
20. XI.	Gemischtes Futter	—	370	385	385	4,9 5,0	Vom Futter vom 19. 165 g gefressen

Fütterungsperioden berechnen und findet bei Vergleich mit der N-Ausscheidung, daß sich die Tiere durchwegs in *positiver* N-Bilanz befanden (mit Ausnahme natürlich der Hungertage bei Hund 1). Die N-Ausscheidung an den einzelnen Tagen unterliegt bedeutenden Schwankungen.

Wenn wir schließlich die Kreatinin- und N-Werte, Zahl für Zahl, miteinander vergleichen, so zeigt sich *in den meisten Fällen*, allerdings nicht durchwegs, ein gewisser *Parallelismus*, nur sind eben die Schwankungen beim Kreatinin *viel* weniger ausgeprägt, so daß man eine starke Abhängigkeit vom täglichen Futter, im Widerspruch zum *Mendel*schen Schema, *nicht* herauslesen darf.

III. Kreatininausscheidung bei alimentärer Glykosurie und Phlorrhizindiabetes.

Betrachten wir von den beiden Parallelversuchen zunächst den bei Hund 3, der während des Versuchs stark an Gewicht verlor, fast stets in negativer N-Bilanz war und schon am vierten Tage der Phlorrhizininjektion das Futter erbrach bzw. stehen ließ. Die Kreatin(in)werte gehen im allgemeinen unter normalen Bedingungen den Schwankungen der N-Ausscheidung (wie bei Hund 1 und 2) parallel, nur sind die Schwankungen wieder viel weniger ausgeprägt. Die durch Infusion von zweimal je 100 g Rohrzucker hervorgerufene *alimentäre Glykosurie* von 1 g bzw. 0,8 g Glucose im Harn zeigt im ersten Falle eine Senkung des Kreatininwertes parallel zu der des Gesamt-N, im zweiten Falle bleiben beide Zahlen auf dem normalen Niveau. Die Wirkung auf die Kohlehydratausscheidung zeigt sich allerdings gegenüber der des Phlorrhizins so geringfügig, daß man unter keinerlei Annahme einen wesentlichen Einfluß auf den Kreatinstoffwechsel erwarten konnte. Auf die zur Ermittlung der Ausscheidungsquote am 3. Dezember vorgenommene subkutane Injektion von *Kreatin* und ihre Wirkung kommen wir später zurück. Am 6. Dezember wurde 1 g *d-Argininnitrat* (*Hoffmann-La Roche*) injiziert und, wie nach den bisherigen Erfahrungen zu erwarten, *keinerlei Wirkung auf die Kreatinkörperausscheidung* konstatiert. Am 9. Dezember begannen die durch 7 Tage fortgesetzten subkutanen Injektionen von je 0,3 g Phlorrhizin (*Kahlbaum*) in 3 ccm Olivenöl. Schon am dritten Tage stieg der N-Wert gewaltig an und, da am vierten, fünften und sechsten Tage das Tier das Futter partiell, am siebenten und den folgenden Tagen der Nachperiode völlig stehen ließ, war die negative Bilanz während des ganzen Versuchs ausgesprochen. Der Wert $D:N$ war am vierten Versuchstag (12. Dezember) 2,1, sonst immer zwischen 2,4 und 2,9. Die Kreatin(in)werte stiegen ebenfalls erst am dritten Versuchstag plötzlich mächtig über das normale Niveau an, blieben während der Phlorrhizinperiode auf dem erhöhten Niveau und gehen in der Nachperiode den Schwankungen der N- und der Glucoseausscheidung ziemlich genau parallel; mit dem Abklingen der Phlor-

Tabelle III. Hund 3, ♂.

Das Tier wird nach mehrtägiger Einstellung auf kreatininfreie Kost ab 21. XI. mit 9,40 kg in Versuch genommen.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges. Kreatinin mg	Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Zucker im Harn g	Bemerkungen
22. XI.	200 g Kuttelflecken	—	320	506	390	6,4 6,5	—	Infusion von 300 ccm Wasser
23. XI.	Ebenso	9,25	240	636	322	8,1 8,1	—	Ebenso
24. XI.	„	9,90	225	297	234	3,5 —	—	„
25. XI.	„	—	440	598	526	10,1 —	—	„
26. XI.	„	8,60	360	367	338	6,1 6,1	—	Infusion v. 50 g Rohrzucker in 300 ccm Wasser
27. XI.	„	—	340	408	381	5,9 6,1	*)	Infusion von 100 g Rohrz. in 300 ccm Wasser
28. XI.	„	8,80	185	181	192	3,0 3,0	1,03	Infusion von 300 ccm Wasser
29. XI.	„	—	450	342	306	5,9 5,9	0	Infusion von 100 g Rohrz. in 300 ccm Wasser
30. XI.	„	8,50	330	333	343	5,0 —	0,79	Infusion von 300 ccm Wasser
1. XII.	„	—	540	464	454	7,6 —	0	Ebenso
2. XII.	„	—	480	—	461	8,1 8,1	—	„
3. XII.	„	8,30	495	505	455	7,9 8,0	—	Injektion von 1,31 g Kreatin. Infusion v. 100 ccm Wasser
4. XII.	„	—	330	1320	726	7,0 7,0	0	Infusion von 300 ccm Wasser
5. XII.	250 g Kuttelflecken	8,60	460	423	414	6,1 6,3	—	Ebenso
6. XII.	Ebenso	—	440	431	308	6,5 6,2	—	Infusion von 300 ccm Wasser. Inj. von 1 g d-Argininnitrat
7. XII.	„	—	430	396	370	8,8	—	Infusion von 300 ccm Wasser
8. XII.	„	—	415	423	340	8,5 8,5	—	Ebenso
9. XII.	„	7,70	410	451	385	8,4 8,4	—	Injektion von 0,3 g Phlorrhizin in 3ccm Olivenöl. Injekt. v. 300 ccm Wasser
10. XII.	300 g Kuttelflecken	—	580	522	360	9,4 9,6	23,0	Infusion von 300 ccm Wasser
11. XII.	Ebenso	—	420	336	302	7,4 8,0	19,7	Ebenso
12. XII.	„	—	820	804	607	23,6 23,6	48,4	Infusion von 300 ccm Wasser. Etwas Harn verloren gegangen. Futter erbrochen, doch z. T. wieder gefressen

*) *Fehling* und *Nylander*-Probe negativ.

Tabelle III (Fortsetzung).

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges. Kreatinin mg	Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Zucker im Harn g	Bemerkungen
13. XII.	300 g Kuttelflecken	—	390	666	374	11,8 11,7	31,0	Injektion von 0,3 g Phlorrhizin, Futter zum Teil stehengelassen, sehr matt
14. XII.	Ebenso	—	780	842	374	9,6 10,0	28,1	Injektion von 0,3 g Phlorrhizin, vom Futter nur 47 g gefressen
15. XII.	„	—	550	770	396	7,7 7,5	21,6	Injektion von 0,3 g Phlorrhizin. Futter völlig stehengelassen
16. XII.	„	—	340	893	354	8,2 7,9	22,3	Keine Injekt. Futter völlig stehengelassen
17. XII.	„	—	115	304	120	2,7 —	7,8	Ebenso
18. XII.	„	—	475	821	285	7,3 —	19,8	„
19. XII.	„	—	685	975	493	13,2 —	32,0	Futter vom 18 gefressen. Infusion v. 250 ccm Wasser
20. XII.	„	—	450	306	162	10,5	7,5	Futter gefressen. Infusion von 300 ccm Wasser
21. XII.	„	—	380	—	369	7,9	0	Infusion von 300 ccm Wasser
22. XII.	„	5,90	460	322	230	7,7	0	Keine Infusion

Tabelle IV. Hund 4, ♂.

Das Tier wurde ab 20. XI. mit etwa 15 kg in Versuch genommen und erhielt gleich 300 g Kuttelflecken.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges. Kreatinin mg	Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns mg	Zucker im Harn g	Bemerkungen
24. XI.	300 g Kuttelflecken	—	245	689	582	7,5 7,5	—	Infusion von 300 ccm Wasser
25. XI.	Ebenso	—	315	561	498	7,7 —	—	Ebenso
26. XI.	„	14,20	290	418	377	5,3 5,3	—	„
27. XI.	„	—	580	684	580	7,6 7,8	—	Infusion von 150 g Rohrz. in 300 ccm Wasser
28. XI.	„	14,40	300	680	620	7,4 7,5	1,40	Infusion von 300 ccm Wasser
29. XI.	„	—	540	648	649	7,7 7,6	0	Infusion von 150 g Rohrz. in 300 ccm Wasser
30. XI.	„	14,00	230	—	454	4,8 4,8	2,5 2,4	Infusion von 300 ccm Wasser

Tabelle IV (Fortsetzung).

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges. Kreatinin mg	Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Zucker im Harn g	Bemerkungen
1. XII.	300 g Kuttelflecken	—	840	773	689	11,6 11,6	0	Infusion von 300 ccm Wasser
2. XII.	„	—	570	593	570	8,6 8,6	—	Ebenso
3. XII.	„	—	500	690	530	8,3 8,5	—	„
4. XII.	„	—	660	700	686	10,2 10,2	—	„
5. XII.	„	13,20	420	529	512	7,2 —	—	„
6. XII.	„	—	575	—	529	11,0 —	—	„
7. XII.	„	—	340	—	394	6,2 —	—	„
8. XII.	„	—	515	536	536	9,4 9,6	—	„
9. XII.	400 g Kuttelflecken	13,00	460	524	488	7,5 7,6	—	„
10. XII.	„	—	585	608	608	11,5 11,5	—	„
11. XII.	„	—	600	—	576	10,4 10,5	—	„
12. XII.	„	—	555	588	588	10,9 —	—	„
13. XII.	„	—	630	—	630	11,6 —	—	„
14. XII.	„	—	410	597	565	11,0 11,1	—	Hund erbricht infund. Wasser. Injekt. von 0,2 g Phlorrhizin in Olivenöl
15. XII.	„	12,35	735	—	529	8,8 8,8	15,4	Injektion von 0,3 g Phlorrhizin
16. XII.	„	—	575	621	610	12,2 12,1	23,4	Ebenso
17. XII.	„	—	800	800	704	12,5 12,9	31,3	Injektion von 0,3 g Phlorrhizin. Etwas Harn verloren gegangen
18. XII.	„	—	700	630	490	11,2 —	25,2	Injektion von 0,3 g Phlorrhizin
19. XII.	„	—	840	655	588	10,8 10,8	27,1	Ebenso
20. XII.	„	—	760	517	441	13,0 12,8	28,2	„

rhizinwirkung ist auch der normale Kreatinwert wieder erreicht und das Tier zugleich leidlich im N-Gleichgewicht. Bemerkenswert ist der hohe Wert für *Harn-Kreatin* (Differenz zwischen Gesamt- und präformiertem Kreatinin), wie schon durch zahlreiche frühere Beobachter[1]) festgestellt wurde. Ein Versuch, das N-Gleichgewicht bei diesem Tier während des Phlorrhizinversuchs durch reichliche Fütterung herzustellen, wäre aussichtslos gewesen. Um so deutlicher waren die Ergebnisse beim anderen Versuchstier.

Hund 4, ein kräftiges Tier in gutem Ernährungszustand, nahm während der ganzen Versuchsdauer relativ wenig an Gewicht ab; er blieb bis zur Phlorrhizinperiode, wie man sieht, in positiver N-Bilanz, aber auch nach Einsetzen derselben beträgt der pro Tag durchschnittlich ausgeschiedene N-Wert 11,35 gegen eine Aufnahme von 10,7 g; ein Stehenlassen oder Erbrechen der Nahrung erfolgte nicht. Für die Kreatinkörperausscheidung gelten wieder die schon mehrfach erwähnten Beziehungen zur N-Abgabe. Die am 27. und 29. November erfolgte Infusion von je 150 g Rohrzucker, die eine Glucoseausscheidung von 1,4 bzw. 2,5 g zeitigte, ließ *keinen Einfluß* auf die Kreatinkörperwerte erkennen; die Schwankung der Werte am 30. wird am 1. Dezember schon kompensiert. In der Phlorrhizinperiode war das Tier, wie erwähnt, fast im N-Gleichgewicht und fraß normal trotz mächtiger Zuckerausscheidung, der Wert $D:N$ lag zwischen 1,7 und 2,6. *Die Kreatinkörperausscheidung war nun, mit Ausnahme eines Tages (17. Dezember), durchaus nicht über die Norm erhöht.* [Am 17. Dezember ging leider etwas Harn verloren, so daß *sämtliche* Zahlen an diesem Tage zu niedrig sind, dem hohen Kreatinwert steht also auch ein *erhöhter N-Wert* (über 12,2 g im Mittel) gegenüber.]

Wir gewinnen also aus diesem, dank der Resistenz des Tieres, gelungenen *Versuch den Eindruck, daß im Falle der leidlichen Einhaltung des N-Gleichgewichts auch die Kreatinkörperausscheidung im Phlorrhizindiabetes* **nicht** *beeinflußt wird*, bzw. daß deren Erhöhung nur dann stattfindet, wenn (wie bei Hund 3) das Tier in stark negative Bilanz gerät. Wir haben also keine Ursache, in der erhöhten Kreatinkörperausscheidung einen *spezifischen* Einfluß der Phlorrhizingabe zu erblicken; die Wirkung tritt offenbar nur dann ein, wenn durch das Phlorrhizin oder eine andere Schädigung die N-Bilanz stark negativ wird, d. h. Körper-(Muskel-)eiweiß in größerem Ausmaß zerfällt.

Durch diesen Versuch war nun aber auch die in der Einleitung erwähnte Möglichkeit, die bei Phlorrhizindiabetes spezifisch „angeregte" Kreatinkörperausscheidung durch Injektion einer vermutlichen Mutter-

[1]) Vgl. *Benedict* und *Osterberg* (l. c.), ferner *A. Palladin*, diese Zeitschr. **161**, 139, 1925, dort auch ältere Literatur.

substanz weiter zu erhöhen, ziemlich geschwunden, denn nun bestand eine solche spezifische Anregung offenbar gar nicht.

IV. Arginin- und Methylguanidingabe bei phlorrhizindiabetischen Hunden.

Trotzdem wurde der Versuch unternommen bzw. bei *Hund 4* noch durch drei weitere Tage fortgesetzt.

Tabelle V.

Wir wiederholen die Zahlen vom 20. XII.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges. Kreatinin mg	Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Zucker im Harn g	Bemerkungen
20. XII.	400 g Kuttelflecken	—	760	517	441	13,0 12,8	28,2	Injektion von 0,3 g Phlorrhizin
21. XII.	„	—	540	485	454	14,5 13,9	23,0	Ebenso. Um ½4 h nachm. werden 2 g d-Argininnitrat in 0,9 proz. NaCl injiziert
22. XII.	„	11,5	1000	680	600	14,0 14,0	35,5	Injektion von 0,3 g Phlorrhizin
23. XII.	„	—	820	476	328	11,9 11,9	24,2	—

Die nach erfolgter Argininjektion (Präparat *Hofmann-Laroche*, Basel) erfolgte Erhöhung auf 680 mg, der am nächsten Tage schon eine Senkung auf 476 mg folgte, konnte nach unseren Erfahrungen *nicht* als positiver Einfluß der Arginingabe angesehen werden. Trotz starker Zuckerausscheidung und zuletzt deutlich negativer Bilanz ($D:N$ = 1,6, 2,5, 2,0) ist die Gesamtkreatinabgabe *nicht über das normale Niveau erhoben*. Der folgende Versuch erfolgte wieder unter wenigen physiologischen Bedingungen.

Der Hund 2 reagierte schon auf die erste Injektion von Phlorrhizin mit deutlichem Negativwerden der N-Bilanz, die während des ganzen Versuchs negativ bleibt, zumal das Tier das Futter ab 16. zum Teil, ab 18. völlig stehen läßt.

Vom 9. bis 15. Januar scheidet das Tier täglich im Durchschnitt 11,7 g N aus, gegen eine Einnahme von 8 g. Der Wert $D:N$ beträgt am Tage nach der ersten Injektion 2,1, schwankt dann zwischen 2,8 und 3,9.

Wir sehen dementsprechend auch den Wert für die Kreatinkörperausscheidung sofort stark ansteigen, besonders große Ausschläge werden wieder kompensiert. Hier wurde nun auf ein — wie wir annahmen (s. oben), infolge starken Eiweißzerfalls — *erhöhtes Ausscheidungsniveau*

Tabelle VI. Hund 2, ♀.

Kam am 1. I. 1926 in den Käfig, erhielt ab 2. I. 300 g Kuttelflecken pro Tag.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges. Kreatinin mg	Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Zucker im Harn g	Bemerkungen
6. I.	300 g Kuttelflecken	13,45	315	419	422	6,8 6,7	—	—
7. I.	„	—	260	461	409	8,7 8,7	—	Infusion von 300 ccm Wasser
8. I.	„	—	450	405	414	6,9 6,7	—	Ebenso 1. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin
9. I.	„	13,10	725	740	638	11,2 11,2	23,4	2. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin
10. I.	„	—	495	634	465	9,0 8,7	34,5	3. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin
11. I.	„	—	740	770	577	13,5 13,5	43,5	4. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin
12. I.	„	—	830	1162	730	12,5 12,5	45,3	5. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin. Etwas Harn verloren gegangen
13. I.	„	12,50	1030	—	515	—	34,8	6. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin
14. I.	„	—	1000	940	540	14,0 13,4	45,5	7. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin
15. I.	„	—	900	792	612	10,8 —	33,8	8. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin. 4h nachm. 1,98 g d-Argininnitrat in 25 ccm phys. NaCl
16. I.	„	—	970	854	815	11,7 11,1	32,3	9. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin. 80 g Futter v. 15. stehengelassen
17. I.	„	—	1000	880	500	10,1 10,1	30,1	10. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin. 270 g Futter v. 16. stehengelassen
18. I.	„	11,40	840	873	386	8,9 8,9	28,1	11. Injektion von 0,3 g Phlorrhizin. Alles Futter stehengelassen. 4h nachm. 0,3 g Methylguanidin-HCl in 25 ccm phys. NaCl
19. I.	„	—	1140	866	296	6,7 6,1	21,8	Kein Futter gefressen
20. I.	„	—	960	864	422	7,5 7,3	22,2	Ebenso
21. I.	„	10,60	790	822	363	6,8 —	19,0	-
22. I.	„	—	1330	878	399	5,2 —	18,1	-

Das Tier wurde dann zur Erholung aus dem Käfig genommen und auf gemischte Kost gesetzt.

eine Injektion von 1,98 g d-Argininnitrat und 2 Tage später von 0,3 g Methylguanidin-HCl superponiert; aber auch unter diesen Verhältnissen (gestörte Nahrungsaufnahme, stark negative N-Bilanz) war absolut *kein deutlicher Ausschlag wahrzunehmen*, ein Schluß auf etwaige genetische Zusammenhänge also nicht zu ziehen.

V. Verabreichung von Tetrahydro-β-naphthylamin.

Nach den oben angeführten (negativen) Ergebnissen am phlorrhizindiabetischen Tier war es interessant, die steigernde Wirkung anderer Stoffe auf die Kreatinkörperausscheidung zu untersuchen, damit die Wirkung auf die Gesamt-N-ausscheidung zu vergleichen und sich zu fragen, ob die Superponierung von vermutlichen Kreatinmuttersubstanzen hier von Erfolg begleitet sein könnte? Die erhöhte Kreatinkörperausscheidung im *Fieber* ist wiederholt beobachtet worden[1]). Wir bedienten uns zur subkutanen Injektion des Tetrahydro-β-naphthylamins-HCl (*Kahlbaum*).

Bei allen drei kurzdauernden Fieberversuchen ist die Beurteilung dadurch erschwert, daß die Tiere schon während oder wenigstens stets nach dem Versuch ihre Nahrung erbrachen bzw. frisch verabfolgtes Futter stehen ließen. Bei *Hund 2*, der vor dem ersten Versuch und zwischen den zwei Versuchen sich in *stark* positiver N-Bilanz befand, läßt sich bei Betrachtung der N-Ausscheidung wohl behaupten, daß er zu keiner Zeit *wesentlich* mehr N abgebe als er einnimmt; demgegenüber *steigt in beiden Fällen die Kreatinkörperausscheidung, nicht sehr beträchtlich, aber deutlich an*, und zwar ist 2 Tage nach der Injektion noch die Wirkung wahrzunehmen, die dann wieder abklingt.

Bei *Hund 5* sehen wir von Anfang an mächtige Schwankungen bei der N- wie bei der Kreatininausscheidung, die miteinander parallel gehen; der Hund ist schon vor der Injektion in schwach negativer Bilanz und wird, da er von dem Injektionstage an kein Futter zu sich nimmt, sodann stark negativ. Die Kreatinkörperausscheidung ist am 18. Februar, wenn man den abnorm niedrigen Wert vom 17. in Betracht zieht, noch nicht erhöht, steigt aber am 19. (und 20.) deutlich über die Norm, auf die sie später wieder herabgeht. Während man also (infolge der stark negativen N-Bilanz) hier von einer *spezifischen* Anregung der Kreatinkörperausschüttung nicht sprechen kann, dürften die Versuche bei Hund 2 doch auf eine solche hinweisen, was ja bei

[1]) Vgl. z. B. *V. C. Myers* und *H. O. Volovic*, Journ. of biol. Chem. **14**, 489, 1913; *M. Bürger*, Zeitschr. f. exper. Med. **18**, 1, 1921 (C. 1921, III, 121).

Tabelle VII. Hund 2, ♀, wurde am 2. II. wieder in den Käfig gebracht und erhielt 300 Kuttelflecken. Die hier und im folgenden verabfolgten Rohrzucker-infusionen dienten dazu, die Erhaltung des N-Gleichgewichts zu erleichtern.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges. Kreatinin mg	Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Temperatur	Bemerkungen
3. II.	300 g Kuttelflecken	—	220	233	255	5,4 5,4		Infusion von 300 ccm Wasser
4. II.	„	—	640	256	205	7,5 —		Ebenso
5. II.	„	12,00	610	268	207	5,6 5,6	11h: 37,8° 12 : 40,2 1 : 40,3 3 : 39,3 4 : 39,0 6 : 39,4	11h vorm. Injekt. von 0,12 g Tetrahydro-naphthylamin-H Cl in 4 ccm physiol. Na Cl. Im Fieber starke Dyspnoe, Tachykardie. 3h nachm. Infusion v. 300 ccm Wasser
6. II.	300 g Kuttelfl. + 40 g Rohrzucker	—	465	437	419	5,2 5,2	$8^1/_2$h: 36,7°	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
7. II.	„	—	655	498	472	5,3 5,0		Vom Futter vom 6. 230 g stehengel. Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
8. II.	„	—	305	165	165	1,1 1,2		Vom Futter vom 7. 215 g stehengel. Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
9. II.	„	—	620	508	446	6,4 6,2		Futter gefressen. Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
10. II.	„	—	635	254	254	6,0 5,7		Ebenso
11. II.	„	11,40	600	384	324	8,1 7,9	12h: 37,8° $1^1/_2$: 40,6 $2^1/_2$: 40,8 $3^3/_4$: 40,0 $4^3/_4$: 39,4 6 : 39,4	Ebenso. 12h 15' Inj. von 0,11 g Tetrahydro-naphthylamin-H Cl in phys. Na Cl. 3h 45' Infus. v. 300 ccm Wasser. Zwischen 4 u. $4^1/_2$h Erbrechen v. Futter, Zucker, Schleim. Dyspnoe. Das Erbrochene ist kreatinfrei
12. II.	„	—	430	568	542	7,2 —	9h: 37,2°	Tier erschöpft, atmet normal. Futter vom 11. stehengelassen. Infus. von 300 ccm Wasser + Zucker
13. II.	„	—	410	295	295	1,7 —		Futter vom 12. völlig stehengelassen. Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
14. II.	„	—	440	343	352	1,6 1,3		Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
15. II.	„	—	500	370	370	1,3 1,3		Ebenso. Vom Futter v. 14. 243 g stehengelassen

Das Versuchstier wird noch bis zum 17. Febr. beobachtet, frißt wieder mehr, dann aus dem Käfig genommen und auf gemischte Kost gesetzt.

Tabelle VIII. Hund 5, ♂.

Am 5. II. mit 15,8 kg in Versuch genommen, bekommt zunächst 300 g Kuttelflecken + 40 g Rohrzucker.

	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges. Kreatinin mg		Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g		Temperatur	Bemerkungen
II.	400 g Kuttelfl. + 60 g Rohrzucker	—	500	863		580	10,4			Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
II.	„	—	390	429	728 i. M.	312	5,4 4,8	10,4 i. M.		Ebenso
II.	„	15,20	710	1027		809	15,5 15,7			Ebenso. 1¾ h Inj. von 0,3 g Na-Acetat in physiol. NaCl + 0,4 g Methylguanidin-HCl in phys. NaCl
II.	„	—	250	305	715 i. M.	280	3,4 3,4	11,4 i. M.		Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
II.	„	—	1060	1124		1102	19,0 19,6			Ebenso
II.	„	—	560	627		571	12,2 12,7			„
II.	„	—	590	649		578	12,4 12,2			„
II.	„	14,80	380	281	645 i. M.	266	3,3 3,1	6,7 i. M.	11¼ h : 40,5° 12 : 40,5 1 : 39,8 2 : 39,4 3½ : 38,8 5 : 39,0	Ebenso. Vom Futter v. 16. 340 g stehengelassen. 10¼ h Inj. v. 0,14 g Tetrahydronaphthylamin-HCl. Geringe Dyspnoe. Tachykardie. Futter erbrochen
II.	„	—	660	1007		805	8,9 8,9			Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker. Futter v. 17. größtenteils erbrochen und stehengelassen
II.	„	—	980	941		451	4,7 4,4			Infusion von 300 ccm Wasser. Futter nicht gefressen
II.	„	—	500	800		430	4,1 3,9			Ebenso
II.	„	—	460	681		561	4,3 4,1			„
II.	„	—	610	711		500	3,6 3,4			„

Hund wird aus dem Käfig gebracht und auf gemischte Kost gesetzt.

dem *heftigen Muskelzittern* der Tiere während des Fiebers begreiflich erscheint. Zu einer Superponierung von Arginin oder Methylguanidin usw. auf die Injektion des Fiebermittels konnten wir uns nicht entschließen, da die Tiere durch das Fiebermittel schon stark angegriffen waren und sich in zu wenig physiologischen Versuchsbedingungen befanden. *Wir glauben aber*, bei geeigneter Auswahl der Versuchsmittel und -bedingungen

gerade in der experimentellen Variation der Körpertemperatur ein geeignetes Mittel zu sehen, um die Kreatinkörperausscheidung, unabhängig von der Gesamt-N-Exkretion, zu beeinflussen und vielleicht auch genetische Zusammenhänge aufzuklären.

Im Anhang zu unseren Versuchen in IV. haben wir ferner Hund 5 am 12. Februar eine subkutane Injektion von 0,4 g Methylguanidin-HCl und 0,3 g Natriumacetat, beides in physiologischer NaCl verabfolgt, also den beiden Komponenten, aus denen Kreatin entstehen könnte. Man sieht aus den Mittelwerten der stark schwankenden Tagesausscheidung, daß keinerlei Vermehrung der Kreatinkörperabgabe erfolgt, der Organismus also diese Synthese nicht ohne weiteres vollziehen kann.

VI. Ermittlung der Kreatinausscheidungsquote.

Zur Beantwortung der in der Einleitung aufgeworfenen Frage, ob der Arginingehalt des durchschnittlichen täglichen Eiweißzerfalls ausreichend sei, um die täglich entstehende Kreatinmenge zu decken, mußte man die Ausscheidungsquote einer verabfolgten Kreatingabe ermitteln; kannte man diese Zahl, so war es möglich, aus der durchschnittlichen Kreatinkörper*ausscheidung* auf die pro Tag *entstehende* Kreatinmenge rückzuschließen. Wir machen dabei allerdings die nicht bewiesene Voraussetzung, daß die Ausscheidungsquote für *exogen* (subkutan) zugeführtes Kreatin dieselbe sei wie für *endogen* entstandenes. Unserer Berechnung kommt also nur eine *orientierende* Bedeutung zu.

Die Ausscheidungsquote berechnet sich aus dem Versuch vom 15. Januar wie folgt:

Der Mittelwert der Ausscheidung von vier normalen Tagen = rund 500 mg, 1850 — 500 = 1350 mg Mehrausscheidung; verabfolgt wurden 1500 mg Kreatin, entsprechend 1290 mg Kreatinin, ergo wurden 100 Proz. ausgeschieden.

Für die Injektion vom 18. Januar finden wir als Mittelwert von vier normalen Tagen 500 mg, 1420 — 500 = 920 mg, plus der Mehrausscheidung von rund 300 mg vom 20. Januar zusammen rund 1200 mg Kreatinin Mehrausscheidung; gegenüber der Gabe von 1500 mg Kreatin, entsprechend 1290 mg Kreatinin beträgt die Quote etwa 95 Proz.

Bei der früher erwähnten, an Hund 3 (Tabelle III) am 3. Dezember verabfolgten Injektion von 1,31 g Kreatin (wir verdanken dieses Präparat der Freundlichkeit von Herrn Prof. *Fromm*) betrug der Mittelwert aus den drei vorhergehenden Tagen rund 470 mg, 1320 (Ausscheidung vom 4. Dezember) — 470 = 850 mg Kreatinin; injiziert wurden 1310 mg Kreatin, entsprechend 1140 mg Kreatinin; das bedeutet eine Quote von etwa 75 Proz.

Tabelle IX. Hund 4, ♂,

kam am 4. I. mit 13,0 kg in den Käfig, erhielt 300 g Kuttelflecken pro Tag und wurde in bezug auf die gewöhnlichen Daten kontrolliert.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Ges. Kreatinin mg	Präform. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Bemerkungen
14. I.	300 g Kuttelfl.	—	445	534	472	6,3 6,3	Infusion von 300 ccm Wasser
15. I.	„	—	340	442	415	5,2 4,8	Ebenso. 12h mittags Inj. v. 1,5 g Kreatin (*Merck*) in phys. Na Cl
16. I.	„	—	685	1852	980	10,0 10,0	Infusion von 300 ccm Wasser
17. I.	„	—	365	573	569	7,5 7,3	Ebenso
18. I.	„	12,10	390	429	390	6,6 —	Ebenso. 4h nachm. Inj. v. 1,5 g Kreatin (*Merck*) in phys. Na Cl
19. I.	„	—	545	1420	512	7,5 7,5	Infusion von 300 ccm Wasser
20. I.	„	—	435	798	574	9,5 9,5	Ebenso
21. I.	„	11,60	450	468	414	8,7 8,7	„
22. I.	800 g Kuttelfl.	—	520	551	541	9,3 9,3	„
23. I.	„	—	750	700	645	15,1 15,1	Keine Infusion
24. I.	„	—	660	—	686	19,0 19,2	—
25. I.	„	—	450	558	558	17,1 17,5	—
26. I.	„	—	610	610	525	17,9 17,9	Vom Futter vom 24. 210 g stehengelass.
27. I.	„	—	660	634	607	19,0 19,0	Futter zum Teil erbrochen
28. I.	Gemischtes Futter	—	520	551	551	18,3 18,5	Futter völlig stehengelassen. Durchfall!

Hund wird aus dem Käfig genommen.

Wir wollen für die folgende orientierende Berechnung die nach den obigen Zahlen eher niedrige Ausscheidungsquote von 80 Proz. auch für *endogen* entstandenes Kreatin annehmen[1]). Die benutzten Werte für

[1]) Über die Ausscheidungsquote subkutan beigebrachten Kreatins gehen die Literaturangaben weit auseinander; nach *Lyman* und *Trimby* (Journ. of biol. Chem. **29**, 1, 1917) werden beim Menschen 76 bis 77 Proz. davon im Harn *nicht* mehr ausgeschieden; nach *V. C. Myers* und *M. S. Fine* (ebendaselbst **16**, 169, 1913) werden beim Kaninchen *je nach der gegebenen*

den *Argiringehalt des Muskeleiweißes* beim Hund wurden nach einer im hiesigen Institut durch Professor *Fürth* und *O. Deutschberger* in Ausarbeitung begriffenen Modifikation der Methodik von *Kossel* und *Gross*[1]) ermittelt, und zwar wurde für Muskeleiweiß ein Gehalt von *6,6 Proz. Arginin* festgestellt. Wir möchten auch an dieser Stelle den Genannten für die Anleitung und Unterstützung bei diesen Bestimmungen herzlich danken.

Nehmen wir zunächst beim *hungernden* Tier (Hund 1 vom 13. bis 17. November), das sein Muskeleiweiß einschmilzt, eine durchschnittliche tägliche N-Ausscheidung von 3,2 g an, das bedeutet (Muskeleiweiß zu 17 Proz. N gerechnet) einen Abbau von 18,8 g Eiweiß; dasselbe enthalte 6,6 Proz. i. e. 1,24 g Arginin. 1,24 g Arginin könnten nach stöchiometrischen Verhältnissen 0,93 g Kreatinin liefern. Die tatsächliche Ausscheidung während dieser Tage betrug demgegenüber im Mittel 330 mg Kreatinin, entsprechend 380 mg Kreatin, was bei einer Ausscheidungsquote von 80 Proz. 4,75 mg entstandenes Kreatin bedeutet, also wenig über die Hälfte der in maximo zur Verfügung stehenden Menge.

Als zweites Beispiel diene die Zeit vom 3. bis 9. Dezember, bei dem in ziemlich gutem *N-Gleichgewicht* eingestellten Hund 4 (Tabelle IV); die tägliche N-Ausscheidung beträgt hier durchschnittlich 8,5 g; das bedeutet einen täglichen Eiweißzerfall von 50 g; dasselbe (zu 6,6 Proz. Arginin) enthielte 3,3 g Arginin; diese könnten in maximo 2,48 g Kreatin liefern; die tatsächliche Ausscheidung beträgt im Mittel rund 550 mg Kreatinin, entsprechend 680 mg Kreatin; bei einer Ausscheidungsquote von 80 Proz. wären also täglich 850 mg Kreatin entstanden: etwa 34 Proz. der aus dem Arginin in maximo zur Verfügung stehenden Menge.

Auch bei ausgiebiger Fütterung bleibt das analog berechnete Verhältnis stets so, daß der tägliche Kreatinbedarf des Körpers sicher aus dem Arginin des täglichen Eiweißabbaues gedeckt werden *kann*. Die obige Fragestellung erfährt also eine Beantwortung, die *in keiner Weise gegen die Gültigkeit des Mendelschen Schemas spricht*, im besonderem nicht gegen die Forderung, daß das Kreatin aus dem abgebauten Gewebseiweiß hervorgeht.

Dosis 25 bis 80 Proz. als Kreatin und 2 bis 10 Proz. als Kreatinin ausgeschieden, Zahlen, die sich den unseren nähern. *G. Lefmann* (H. 57, 476, 1908) findet injiziertes Kreatin beim Hunde nur zum allergeringsten Teile im Harn wieder. Es wäre interessant zu untersuchen, von welchen Faktoren das Ausscheidungsverhältnis abhängt? Wir haben keinen Grund, für unsere Berechnung andere Zahlen anzunehmen als die von uns gefundenen, zumal die von uns injizierte Menge als ziemlich hoch auch eine hohe Ausscheidungsquote erwarten läßt.

[1]) *A. Kossel* und *R. E. Gross*, H. 135, 167, 1925.

VII. Nahrungsaufnahme und Kreatinkörperausscheidung.

In dem *Mendel*schen Schema ist auch die Behauptung enthalten, daß das *Nahrungseiweiß* kein Kreatin liefern könne; mit der Prüfung der Gültigkeit dieser zweiten Forderung befassen sich die folgenden Versuche. Schon im zuletzt beschriebenen Versuch an Hund 4 wurde vom 22. bis 27. Januar statt 300 g Kuttelflecke *800 g* verabfolgt; es zeigte sich sofort eine Erhöhung der Kreatinkörperausscheidung, die aber schon nach 2 Tagen fast zur Norm herabging; gleichzeitig begann das Tier das Futter stehenzulassen bzw. zu erbrechen, so daß wir keinerlei Schlüsse ziehen konnten.

Nach einer längeren Erholungspause für das Versuchstier wurde derselbe *Hund 4* am 17. Februar wieder in den Stoffwechselkäfig gebracht und zunächst mit 200 g Kuttelflecken und einer Infusion von 80 g Rohrzucker pro Tag ernährt.

Wir sehen, daß das Versuchstier sich durchwegs in positiver N-Bilanz befindet; auf die Verdreifachung der zugesetzten Futtermenge reagiert es mit einer *starken Erhöhung der Kreatinausschüttung*. Von 460 mg steigt der Wert auf 790 mg durchschnittlich, um wieder auf einen Tagesdurchschnitt von 478 mg herabzusinken, wenn das Futter auf 200 g herabgesetzt wird. Dieses Resultat mußte den Eindruck erwecken, daß eine Beeinflussung der Kreatinkörperausscheidung durch völlig kreatinfreie Eiweißnahrung wohl statthaben kann, und veranlaßte uns zunächst zu suchen, durch welche *Eiweißkomponente* diese Wirkung verursacht werde? Es war ja wohl möglich, daß per os verabfolgte Aminosäuren in dieser Beziehung günstiger wirken konnten als subkutan beigebrachte oder aber mußten, um den positiven Effekt hervorzubringen, die Aminosäuren vielleicht gerade aus dem Eiweißverband herausgespalten worden sein, also „in statu nascendi" zur Wirkung kommen.

Um zunächst einen möglichen Zusammenhang zwischen *Histidin* und Kreatin festzustellen, wurden 1. am 3. März 2 g l-Histidin-HCl subkutan injiziert; der Effekt war vollkommen negativ, wie nach früheren Versuchen[1]) zu erwarten; 2. wurde ab 7. März eine das histidinreiche Histon *Globin* enthaltende Nahrung in Form von *Blutwürsten* verabfolgt.

Die Blutwürste wurden eigens mit wenig Speck präpariert, dann wiederholt ausgekocht; eine Prüfung auf Kreatin gab ein negatives Ergebnis. Die Trockengewichts- und N-Bestimmung ergaben, daß 190 g Blutwürste denselben N-Gehalt, daher auch ungefähr denselben Eiweißgehalt enthalten wie 200 g Kuttelflecke, 570 g Blutwürste also 600 g Kuttelflecken

[1]) Vgl. *H. Steudel* und *R. Freise*, H. **120**, 244, 1922.

Tabelle X.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Gesamtes Kreatinin mg		Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Bemerkungen
21. II.	200 g Kuttelfl. + 80 g Rohrz.	—	190	397	460 i. M.	300	2,5 2,6	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
22. II.	Ebenso	—	220	540		350	6,1 —	Ebenso
23. II.	600 g Kuttelfl. + 80 g Rohrz.	—	275	460		358	2,0 2,3	"
24. II.	600 g Kuttelfl. + 40 g Rohrz.	—	465	1039	790 i. M.	753	10,3 10,3	"
25. II.	Ebenso	—	510	765		683	13,1 12,8	"
26. II.	"	—	490	615		627	12,3 11,8	"
27. II.	"	—	610	573		488	9,4 9,6	"
28. II.	200 g Kuttelfl. + 40 g Rohrz.	—	730	947		818	20,6 20,6	"
1. III.	200 g Kuttelfl. + 80 g Rohrz.	13,70	180	426	478 i. M.	372	6,2 6,4	"
2. III.	Ebenso	—	220	445		438	4,9 5,0	"
3. III.	"	—	215	—		467	4,2 4,1	Ebenso. Vom Futter vom 2. 40 g stehengelassen. 12h mittags Injektion von 2 g l-Histidin-HCl
4. III.	"	—	220	467		460	3,5 3,3	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker. Alles gefressen
5. III.	"	—	340	588		441	3,8 3,6	Ebenso
6. III.	"	—	80	416		384	3,8 3,6	"
7. III.	145 g Blutwurst + 80 g Rohrz.	—	280	558		484	4,2 4,2	"
8. III.	Ebenso	—	270	495		369	3,1 2,7	"
9. III.	400 g Blutwurst + 80 g Rohrz.	—	270	353		275	2,7 2,9	Ebenso. (Versehen bei der Fütterung!)
10. III.	190 g Blutwurst + 80 g Rohrz.	—	760	684		562	6,0 6,4	Ebenso
11. III.	Ebenso	12,70	575	782		610	8,5 8,7	"
12. III.	"	—	330	403		238	3,0 —	"
13. III.	"	—	510	737		653	7,3 7,7	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker.
14. III.	"	—	550	605		440	4,9 4,8	Ebenso

Tabelle X (Fortsetzung).

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Gesamtes Kreatinin mg	Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Bemerkungen
15. III.	570 g Blutwurst + 80 g Rohrz.	—	230	365	340	3,5 3,4	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
16. III.	570 g Blutwurst + 40 g Rohrz.	—	800	576	560	7,8 —	Ebenso
17. III.	Ebenso	—	1355	—	623	24,8 —	"
18. III.	520 g Blutwurst	—	900	702	684	9,6 9,4	Ebenso. Vom Futter vom 17. 90 g stehengelassen
19. III.	Ebenso	—	690	593	593	8,0 —	Futter völlig stehengelassen

Hund wird aus dem Käfig genommen und auf gemischtes Futter gesetzt.

entsprechen. Das Versuchstier vertrug die neue Nahrung anfangs ziemlich gut, der Harn war allerdings meist durch korpuskuläre (nicht fäkale) Elemente getrübt und mußte stets filtriert werden.

Der Effekt war, wie man sieht, gering. Eine (versehentliche) Verabreichung von 400 g Blutwürsten treibt wohl die Kreatinkörperausscheidung in den nächsten 2 Tagen in die Höhe; bei 190 g hält sich aber das Niveau auf etwa 530 mg im Durchschnitt, also kaum über dem Durchschnitt bei 200 g Kuttelflecken-Fütterung (470 mg). Bei der Erhöhung der Nahrung auf 570 g Blutwürste wird schon am dritten Tage das Futter nur mehr partiell gefressen, die Ausscheidung beträgt etwa 620 mg im Mittel, steht also unter dem analogen Wert bei 600 g Kuttelflecken (790 mg). Die Nahrung wird offenbar sehr schlecht ausgenutzt und eignet sich nicht für einen Fütterungsversuch. Eine spezielle Wirkung, die man vom Histidin ableiten könnte, ist nicht zu erkennen.

Wir richteten unser Augenmerk also zunächst wieder auf das *Arginin* und versuchten *Gelatine* zu verfüttern, deren hoher Arginingehalt, durch *Kossel* und *Gross* (l. c.) sowie im hiesigen Institut festgestellt worden ist. Wir verfütterten Gelatine pulverisiert mit einem Arginingehalt von 7,3 Proz. in einem geeigneten Nahrungsgemisch. Doch konnten wir uns durch einen vom 27. April bis 8. Mai vorgenommenen Stoffwechselversuch an einem neuen Versuchshund (6) überzeugen, daß eine solche Nahrung nur sehr widerwillig und höchstens durch 2 Tage gefressen wird; ähnliche Erfahrungen machten wir auch bei einer Verfütterung von *Casein* und sogar bei Darreichung von ausgekochtem *Fleisch*. Wir geben im folgenden unsere Resultate an den Hunden 4 und 6 wieder.

Tabelle XI. Hund 4, ♂,

wird am 8. V. in Versuch genommen, erhält pro Tag 300 g Kuttelflecke und eine Infusion von 50 g Rohrzucker.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Gesamtes Kreatinin mg		Präf. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Bemerkungen
14. V.	300 g Kuttelfl. + 50 g Rohrz.	—	170	799		655	5,3 5,3	Infusion von 300 ccm Wasser + 50 g Zucker
15. V.	Ebenso	—	220	704	740 i. M.	627	6,4 6,6	Ebenso. Durchfall!
16. V.	100 g Gelatine, 25 g Stärke, 50 g Speck, 8 g Na Cl	—	470	708		705	7,6 7,3	Ebenso. *Kein* Durchfall
17. V.	Ebenso	14,5	480	780		768	13,0 13,0	Infusion von 300 ccm Wasser. Starkes Erbrechen
18. V.	„	—	910	720	780 i. M.	693	12,5 —	Harn enthält Erbrochenes
19. V.	300 g Kuttelfl.	—	450	840		840	12,5 12,8	Leim wird nicht gefressen!
20. V.	„	—	560	576	610 i. M.	580	7,0 6,7	Infusion von 300 ccm Wasser
21. V.	150 g Casein, roh, 30 g Speck, 30 g Stärke, 8 g Na Cl	—	620	645		595	8,3 8,3	Ebenso
22. V.	Ebenso	—	510	745		632	12,6 12,6	-
23. V.	„	—	250	588		556	8,4 8,6	Ebenso. Vom Futter vom 22. etwa ein Viertel stehengelassen
24. V.	300 g Kuttelfl.	—	480	451		470	6,0 5,9	Vom Futter vom 23. die Hälfte stehengelassen
25. V.	Ebenso	—	450	558	615 i. M.	477	7,8 8,0	—
26. V.	580 g ausgekocht. Fleisch	—	640	678		614	8,1 8,4	Infusion von 300 ccm Wasser
27. V.	Ebenso	—	350	546		490	9,0 9,0	Ebenso
28. V.	„	—	1120	1232		1187	32,9 33,6	Etwas erbrochen, matt
29. V.	„	—	660	673		541	21,6 21,6	Matt
30. V.	„	—	400	656		472	14,5 14,6	Infusion von 300 ccm Wasser. Lebhafter. 75 g Futter vom 29. stehengelassen
31. V.	„	—	510	794		632	14,3 14,7	Etwas erbrochen. 60 g Fleisch vom 30. stehengelassen
1. VI.	—	—	560	841		784	—	60 g Fleisch vom 31. stehengelassen

Hund wird, da er auch Kuttelflecke nicht mehr verträgt, aus dem Käfig genommen.

Tabelle XII. Hund 6, ♂,

wird nach dem oben erwähnten Orientierungsversuch am 17. V. mit etwa 14 kg wieder in Versuch genommen, er erhält täglich 300 g Kuttelflecken und per infusionem 40 g Rohrzucker.

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge ccm	Gesamtes Kreatinin mg	Präform. Kreatin.n mg	Ges.-N des Harns g	Bemerkungen
23. V.	300 g Kuttelfl. + 40 g Rohrz.	—	490	608	549	8,4 8,6	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
24. V.	Ebenso	—	450	—	504	8,4 8,7	Ebenso
25. V.	„	—	210	469	364	6,3 6,3	„
26. V.	„	—	740	770	681	10,4 —	Ebenso + 16,6 g Argininnitrat (unrein) in 140 ccm Wasser
27. V.	„	—	255	311	265	5,4 5,2	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
28. V.	„	—	470	536	498	9,3 9,4	Ebenso
29. V.	1000 g Fleisch ausgekocht	—	300	390	318	3,4 3,0	„
30. V.	Ebenso	—	1075	1269	1118	26,2 26,2	„
31. V.	300 g Fleisch ausgekocht	—	950	817	779	23,7 24,2	Vom Futter vom 30. 600 g stehengelassen. Durchfall!
1. VI.	270 g Fleisch ausgekocht	—	695	570	556	15,3 15,6	Futter gefressen
2. VI.	300 g Kuttelfl.	—	420	563	479	12,7 12,9	Ebenso
3. VI.	300 g Kuttelfl. + 40 g Rohrz.	—	430	477	456	9,2 9,4	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
4. VI.	300 g Kuttelfl.	—	450	525	504	9,8 9,8	Infusion von 300 ccm Wasser + *10 g Harnstoff*
5. VI.	300 g Kuttelfl. + 40 g Rohrz.	—	600	516	492	9,2 9,5	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
6. VI.	Ebenso	—	490	510	480	6,1 6,3	Ebenso
7. VI.	„	—	425	442	442	6,1 6,0	„
8. VI.	„	—	630	592	580	8,3 8,3	„
9. VI.	320 g ausgekochte Milz	—	530	562	551	7,3 7,4	„
10. VI.	300 g ausgekochte Milz	—	390	523	476	7,4 7,4	„
11. VI.	300 g Kuttelfl.	—	370	407	392	7,3 7,5	Infusion von 300 ccm Wasser + 12 g nucleinsaures Na + etwa 20 g Zucker
12. VI.	300 g Kuttelfl. + 40 g Rohrz.	—	410	549	508	9,5 9,8	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker

Tabelle XII (Fortsetzung).

Datum	Futter	Gewicht des Tieres kg	Ges. Harnmenge g	Gesamtes Kreatinin mg	Präform. Kreatinin mg	Ges.-N des Harns g	Bemerkungen
13. VI.	300 g Kuttelfl. + 40 g Rohrz.	—	350	441	434	9,0 8,7	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
14. VI.	Ebenso	—	570	570	536	9,7 9,3	3h nachmitt. 1,334 g Glykocyamin-HCl in 4 ccm phys. NaCl injiz. Später Futter erbrochen, matt
15. VI.	„	—	430	654	585	9,2 9,0	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
16. VI.	„	—	540	508	486	8,5 8,2	Injektion von 5 g Glykocyamin in HCl gelöst, kein Wasser
17. VI.	„	—	280	441	375	6,5 6,5	Infusion von 300 ccm Wasser + Zucker
18. VI.	„	—	310	490	422	5,6 5,4	Ebenso
19. VI.	„	—	420	512	445	7,6 —	—

Die angeführten Versuchsdaten zeigen die großen Schwierigkeiten, mit denen man bei einem etwas länger dauernden Stoffwechselversuch zu kämpfen hat. Hund 4 ist bei Versuchsbeginn auf dem hohen Niveau von etwa 740 mg Kreatininkörperausscheidung im Durchschnitt eingestellt; während der drei folgenden Tage, während denen das *Gelatinefutter* konsumiert wird, ist keine wesentliche Steigerung wahrzunehmen (780 mg) (allerdings erbricht der Hund einen Teil des Futters am zweiten Tage); die Ausscheidung der zweitägigen Nachperiode mit Kuttelflecken sinkt dann auf etwa 610 mg. Wenn man bedenkt, daß die Gelatinenahrung dem Tiere 100 g Eiweiß mit 7,3 g Arginin[1]) liefert, statt den in 300 g Kuttelflecken enthaltenen 50 g Eiweiß mit 2 g Arginin[2]) und daß dieses Futter, wie aus der N-Ausscheidung zu ersehen, recht gut ausgenutzt wird, läßt sich *eine diesen Tatsachen entsprechende Erhöhung der Kreatinkörperabgabe* aus dem Versuch *nicht* herauslesen. Man muß allerdings auch in Rechnung ziehen, daß Gelatine eben doch ein dem Verdauungstrakt des Hundes nicht angepaßtes und unvollständiges Protein ist und daß der Versuch nicht lange genug dauern konnte, um unzweideutige Schlüsse zu ziehen.

Noch ungünstiger steht es beim *Caseinfutterversuch*; es wurden 150 g vollständiges Eiweiß mit mindestens 5 g Arginin[3]) geboten, von dem schon am zweiten Tage ein Viertel, am dritten Tage die Hälfte stehengelassen wurde; bei Berücksichtigung dieser Tatsache sowie der mangelhaften Ausnutzung, die man aus der N-Ausscheidung erkennt, läßt sich aus der ziemlich unveränderten Kreatinkörperabgabe kein Schluß für oder gegen eine Wirkung der *Argininzufuhr im Eiweißverband* ziehen.

[1]) 100 g *Gelatine*, pulverisiert, enthalten 14,7 g N, gegenüber einer Ausscheidung von 12,5 bis 13,0 g.

[2]) Kuttelflecke enthalten feucht 0,66 Proz. Arginin.

[3]) 100 g Casein (*Hammarsten*) enthalten 3,6 bis 4 Proz. Arginin (nach *Fürth* und *Deutschberger*) und 12,0 bis 12,3 g N.

Die angeführten Tatsachen veranlaßten uns, von weiteren Fütterungsversuchen mit definierten Eiweißkörpern von bekanntem Arginingehalt abzustehen und unter Verzicht auf die Berücksichtigung einer bestimmten Aminosäure als Muttersubstanz des Kreatins, den Gesamteffekt einer *ausgiebigen Eiweißfütterung*, wie wir ihn schon bei Kuttelflecken festgestellt hatten, zu betrachten. Wir verwendeten nunmehr *Pferdefleisch*, das nach sechsmaligem Auskochen, bei Prüfung nach der *Folin*schen Methode, noch immer kreatinhaltig war; wir werteten den Kreatingehalt zu 0,0148 Proz. von feuchtem Fleisch aus. Die Ausnutzung war wieder unvollkommen[1]).

Die mächtige Steigerung der Proteinzufuhr (300 g Fleisch enthalten etwa 100 g Eiweiß, 950 g Fleisch also etwa 320 g) kommt hier trotzdem stark zur Geltung. Die *Kreatinkörperausscheidung steigt deutlich an* und bleibt bis zu Ende des Versuchs (wo sich das Tier überfressen hatte) auf erhöhtem Niveau.

Die exogene Kreatinzufuhr spielt dabei kaum eine Rolle [1 kg Fleisch enthält (s. oben) etwa 148 mg Kreatin, nehmen wir auch 200 mg an, so können davon höchstens 60 bis 70 mg[2]) ausgeschieden werden, was natürlich nicht in Betracht kommt]. Ob allerdings die Wirkung *nur* auf dem *exogenen Eiweiß* beruht und nicht infolge der gewaltigen Überschwemmung mit Protein, etwa durch *Reizwirkung* der Abbauprodukte, auch ein *endogener Eiweißzerfall* eingeleitet wird, läßt sich wohl kaum entscheiden; daß *nur endogener* Eiweißzerfall die Wirkung hervorbringt, ist wohl wenig wahrscheinlich.

Bei Hund 6 wurde zunächst die Wirkung einer per os verabreichten größeren Argininmenge beobachtet. Die 16,6 g Argininnitrat waren aus Gelatine hergestellt und noch mit Flaviansäure verunreinigt; nach der N-Bestimmung waren mindestens 9 g Arginin (statt 12,45 g) enthalten; wie man sieht, war die Wirkung der per os gegebenen Menge ebenso negativ, wie die einer subkutan injizierten.

Die Fleischfütterung hat denselben Effekt wie bei Hund 4; dieser ist, allerdings nur bei der ersten Verabreichung von 1000 g Fleisch wahrzunehmen, da von den 1000 g Futter des 30. nur mehr 400 g gefressen werden. Wir versuchten, uns ferner von der Empfindlichkeit

[1]) Das feuchte Fleisch enthält 5,4 Proz. N; während der Verfütterung vom 26. bis 30. wurden 2380 g Fleisch mit 128,5 g N aufgenommen, in der gleichen Zeit 92,5 g N ausgeschieden, also pro Tag um etwa 7 g zu wenig; ebenso steht es bei Hund 6.

[2]) Vgl. zur Ausscheidungsquote *per os* verabreichten Kreatins: *V. C. Myers* und *M. S. Fine*, Journ. of biol. Chem. **21**, 377, 1925 ($^1/_2$ bis $^1/_8$); bei großen Dosen viel weniger, s. *W. C. Rose* und *F. W. Dimmit* (ebendaselbst **26**, 345, 1916).

des Kreatinstoffwechsels gegenüber *Stoffwechselreizen* Rechenschaft zu geben, indem wir am 4. Juni statt Rohrzucker *10 g Harnstoff* infundierten. Es war keine Wirkung wahrzunehmen, doch läßt sich wegen dieses Befundes eine eventuelle Reizwirkung von Abbauprodukten aus 1000 g Fleisch natürlich nicht ausschließen.

Wir untersuchten in der Folge, der Vollständigkeit halber, auch die Wirkung von *Milzfütterung*, also purinreicher Nahrung, sowie von *nucleinsaurem Natrium* [vgl. *Steudel* und *Freise*; ferner *Dorner*[1])]. Die 320 g ausgekochte Milz (praktisch kreatinfrei befunden) enthielten 13,3 g N, wurden also nicht vollkommen ausgenutzt; es waren ferner darin etwa 9 g Nucleinsäuren enthalten, von denen das etwa in Betracht kommende Guanin etwa 1,4 g ausmacht. Wie schon *Dorner* (l. c.) bei Thymusfütterung fand, ist eine Bildung von Kreatin aus Nucleinsubstanz *nicht* festzustellen.

Bemerkenswert ist, daß bei zweimaliger Injektion von 1,33 g bzw. 1,5 g Glykocyamin-HCl (wir verdanken das Präparat der Freundlichkeit von Herrn Professor *Fromm*) das erstemal nur eine minimale, das zweitemal gar keine Steigerung der Kreatinkörperausfuhr auftrat [auch die geringe erste Wirkung kann durch Giftwirkung — der Hund erbrach das Futter — hervorgebracht worden sein[2])], so daß wir auch das Methylierungsvermögen des Organismus in diesem Falle — man erinnere sich an die mächtige Ausscheidung beim Kreatin — in Zweifel ziehen müssen.

Zusammenfassung.

Es wird die Ausscheidung von Kreatinkörpern bei kreatinfrei gefütterten Hunden, ohne zwischen Kreatin und Kreatinin zu unterscheiden, bei diversen Eingriffen in den Eiweiß- bzw. Kohlehydratstoffwechsel untersucht.

1. In ziemlich langdauernden Versuchen wird ein gewisser Parallelismus zwischen der Ausscheidung der Kreatinkörper und der des Gesamt-N beobachtet; die täglichen Schwankungen sind allerdings bei den Kreatinkörpern viel weniger ausgeprägt, so daß die *Richtigkeit des Mendelschen Schemas* im großen und ganzen durch diesen Befund nicht berührt wird.

2. Bei Herbeiführung einer *alimentären Glykosurie* durch Rohrzuckerinfusion ist eine spezifische Beeinflussung der Kreatinkörperausscheidung *nicht* wahrzunehmen.

3. Bei subkutaner Injektion von *Phlorrhizin* steigt die Kreatinkörperausschüttung parallel mit der Gesamt-N-Abgabe an; *bleibt diese*

[1]) *G. Dorner*, H. 52, 225, 1907.

[2]) Vgl. *Mellanby*, Journ. of Physiol. 36, 447, 1908 und *W. Czernecki*, H. 44, 294, 1905 gegenüber *Dorner* (l. c.). Übrigens gibt Glykocyamidin selbst eine, wenn auch schwache, Reaktion nach *Folin*.

in engen Grenzen, so ist auch bei gewaltiger Zuckerausschüttung eine Steigerung der Kreatinkörperausscheidung über das Niveau der Vorperiode nicht *zu erkennen.* Der Einfluß des Phlorrhizins auf den Kreatinstoffwechsel ist kein direkter und spezifischer; eine andere Substanz, die erhöhten Gewebszerfall bewirkt, wird denselben Einfluß ausüben. Wir können aus den Phlorrhizinversuchen eine engere Beziehung zwischen Kohlehydrat- und Kreatinkörperstoffwechsel *nicht* ableiten.

4. Wird während der Phlorrhizinperiode eine der vermutlichen Muttersubstanzen des Kreatins, *Arginin* oder *Methylguanidin* subkutan beigebracht, so ist keine weitere Wirkung auf das Ausscheidungsniveau der Kreatinkörper zu sehen, unabhängig davon, ob dieses Ausscheidungsniveau durch die Phlorrhizingabe über die Norm erhöht war oder nicht.

5. Die Verabreichung des Fiebermittels *Tetrahydro-β-naphthylamin* bewirkt bei heftigem Muskelzittern eine *leichte Erhöhung der Kreatinkörperabgabe*, während — wenigstens bei dem einen Versuchstier — die N-Bilanz nicht wesentlich aus dem Gleichgewicht kommt. Die Superponierung mutmaßlicher Muttersubstanzen des Kreatins war hier wegen zu starker Erschütterung der physiologischen Lebensbedingungen nicht möglich; doch wäre es bei Verbesserung der Versuchsbedingungen und -mittel vielleicht nicht aussichtslos, auf der Basis von künstlicher Variation der Körpertemperatur die solange schon in Gang befindliche, bisher vergebliche Sache nach *beweisbaren* Muttersubstanzen des Kreatins fortzusetzen.

6. Die Ausscheidungsquote exogen (subkutan) verabfolgten Kreatins wird ermittelt (zu etwa 80 Proz.). Unter der, allerdings unbewiesenen, Annahme, daß *endogen* im Stoffwechsel entstandenes Kreatin nach derselben Quote ausgeschieden wird, wird das pro Tag durchschnittlich entstandene Kreatin errechnet. Wird andererseits aus der täglichen N-Ausscheidung bzw. Eiweißmauserung, die pro Tag aus dem Eiweißkomplex losgelöste Argininmenge (Arginingehalt von Muskeleiweiß etwa 6,6 Proz.) in Rechnung gestellt, so zeigt sich, daß diese Argininmenge bei Hunger und N-Gleichgewicht usw. *stets bei weitem ausreicht, um die tägliche Kreatinproduktion des Körpers zu decken.* Die Berechnung vermag also keineswegs die Gültigkeit des *Mendel*schen Schemas zu erschüttern.

7. Durch mehrtägige Verfütterung von *Blutwürsten* (Histidingehalt!), *Gelatine* (hoher Arginingehalt!) und *Casein*, sowie durch Infusion einer größeren Dosis von nicht gereinigtem *Argininnitrat* wird gezeigt, daß die Beibringung *per os* von Aminosäuren im Eiweißverband oder freiem Zustand auf die Kreatinkörperausscheidung nicht stärker wirkt, als die *subkutane* Verabreichung, auch daß ein gewisser „status nascendi" durch Herausspaltung der Aminosäuren aus dem

Eiweißverband sie *nicht* befähigt, das Kreatin(in)ausscheidungsniveau zu heben bzw. genetische Beziehungen zu verraten. Wird aber die Zufuhr von kreatinfreiem Protein gewaltig gesteigert, *so steigt zugleich mit der N-Exkretion auch die Kreatinkörperausschüttung stark an, so daß bei überstarker Ernährung die Forderung des Mendelschen Schemas, das Kreatin solle lediglich aus dem endogenen Eiweißzerfall herstammen, nicht uneingeschränkt gelten dürfte.* Allerdings dürfte die Zufuhr so großer Eiweißmengen auch eine *Reizwirkung* auf den endogenen Eiweißbestand ausüben, so daß der endogene Gewebszerfall auch an dieser positiven Wirkung in sehr erheblichem Maße beteiligt sein mag.

Über die Zuckerbildung aus dem Methylglyoxal im normalen Tierkörper.

Beitrag zur Kenntnis der toxischen Eigenschaften des Methylglyoxals und Methylglyoxalacetats.

Von

B. Sjollema und **L. Seekles.**

[Aus dem Laboratorium für veterinärmedizinische Chemie der Universität von Utrecht (Holland)].

(Eingegangen am 18. Juli 1926).

Bezüglich der Bedeutung der Körper mit drei Kohlenstoffketten im intermediären Zuckerstoffwechsel erscheint das Verhalten dieser Stoffe bei der Einverleibung beim normalen oder diabetischen Organismus wissenswert. Analoge Untersuchungen wurden bereits mit dem Dioxyaceton[1]), Glycerin[2]) und mit der Brenztraubensäure (ihrem Natriumsalz)[3]) ausgeführt. *Dakin* und *Dudley*[4]) haben aus Versuchen mit dem Methylglyoxal und mit der l-Milchsäure (als Natriumsalz) an Hunden mit Phlorrhizindiabetes die Bildung einer gewissen Menge „Extraglucose" aus diesen Stoffen ermittelt. Das Verhalten des Methylglyoxals im normalen Tierkörper ist noch nicht genügend klargestellt. Im Schrifttum findet man hierüber die einzige Mitteilung *Dakins* und *Dudleys*[5]), wobei auf Grund der negativen Ergebnisse mit subkutanen Injektionen des Methylglyoxals beim Kaninchen (1 g pro Kilogramm Lebendgewicht) eine geringe Giftigkeit dieses Stoffes angenommen wird.

Unser Studium der chemischen Eigenschaften des Methylglyoxals, womit wir uns seit längerer Zeit beschäftigen[6]), hat zur vorliegenden

---

[1]) *S. Isaac* und *E. Adler*, Klin. Wochenschr. **3**, 1208, 1924; *I. M. Rabinowitch*, Journ. of biol. Chem. **65**, 55, 1925.

[2]) *H. D. Dakin*, und *N. W. Janney*, ebendaselbst **15**, 177, 1913.

[3]) *C. Voegtlin*, *J. W. Thomson* und *E. R. Dunn*, ebendaselbst **64**, 638, 1925.

[4]) *H. D. Dakin* und *H. W. Dudley*, ebendaselbst **15**, 142 bis 143, 1913.

[5]) *Dieselben*, ebendaselbst **15**, 142, 1913.

[6]) Rec. Trav. Chim. **44**, 827, 1925; **45**, 232, 1926; **45**, 15. Oktober 1926

Untersuchung der physiologischen Wirksamkeit dieses Stoffes im normalen Tierkörper (Kaninchen) geführt, wobei sich herausstellte, daß wir uns nicht vorbehaltlos den Auffassungen *Dakins* und *Dudleys* anschließen können.

Methodisches.

Normale Kaninchen bekamen das Methylglyoxal — gewöhnlich in wässeriger Lösung, einzelne in Sesamölsuspension — entweder per os mit der Magensonde, intravenös oder subkutan. Vor der Verabreichung und darauf zu verschiedenen Zeitpunkten wurden Blutproben aus der Ohrvene entnommen, worin der Zucker nach der Methode *Folins* und *Wus* quantitativ bestimmt wurde. In einzelnen Fällen wurde die Milchsäure nach der Vorschrift *Clausens*[1]) bestimmt. Für die Bestimmung des Methylglyoxals wurde das eiweißfreie Blutfiltrat (*Folin*) bei 30° C — unter Verwendung eines Vigreux-aufsatzes, dessen Höhe 60 cm betrug — der Vakuumdestillation unterworfen. Das Destillat wurde in ammoniakalischer Ag_2O-Lösung, der Rückstand (die hauptsächliche Menge des Methylglyoxals enthaltend) wurde mit demselben Reagens und mit Semicarbazid untersucht.

Die Proben ergaben, daß eine 0,0017proz. Methylglyoxallösung in der Kälte eine ammoniakalische Silberoxydlösung innerhalb 5 Minuten braun färbt. Die 0,00017proz. Lösung ergab nach 24 bis 36 Stunden noch eine deutliche Reduktion. Die Semicarbazidprobe war in einer 0,017proz. Methylglyoxallösung nach einer Viertelstunde deutlich positiv (weißkristallinischer Niederschlag). Sie war in 0,0017proz. Lösung nach Verlauf von 48 Stunden negativ.

Gleichzeitig wurde der Zuckergehalt in der 24stündigen Harnmenge nach Methylglyoxaleinverleibung bestimmt. Bei der Milchsäurebestimmung im Harn wurde folgendermaßen verfahren: Ansäuerung mit Phosphorsäure, sechstündige Perkolation mit Äther, Eindampfen der Ätherlösung, Wasserlösung des Residuums und Titrationsbestimmung.

In einigen Fällen fasteten die Versuchstiere zuvor während 18 Stunden oder länger. Aufregung der Tiere — welche stärkere Blutzuckerschwankungen bewirkt — muß tunlichst vermieden werden.

Experimenteller Teil.

Versuch 1. 11. Dezember 1925.

Kaninchen 2 (2500 g), während 18 Stunden gefastet. Blutzuckergehalt: 0,119 Proz. 2 Stunden später: 0,85 g Methylglyoxal in 5 ccm Wasser intravenös.

Das Tier ging unter Krampferscheinungen ein. Im unmittelbar aus der Halsvene entnommenen Blute wurde ein Blutzuckerwert von 0,166 Proz. gefunden.

Die Sektion ergab Lungenhyperämie mit Ödembildung.

Versuch 2. 27. Januar 1926.

Kaninchen 4 (2310 g), nicht gefastet. Blutzuckerwert: 0,172 Proz. 9 Uhr 55 Minuten bis 10 Uhr 5 Minuten intravenöse Injektion von 0,5 g Methylglyoxal in 5 ccm Wasser.

---

[1]) Journ. of biol. Chem. 52, 263, 1922. Im hiesigen Laboratorium ist diese Methode weiter modifiziert worden, worüber innerhalb kurzer Zeit eine Mitteilung erscheinen wird.

Das Tier war zunächst aufgeregt, hierauf lustlos. Blutzuckerwerte: 0,195 Proz. (10 Uhr 15 Minuten), 0,190 Proz. (10 Uhr 30 Minuten), 0,197 Proz. (11 Uhr), 0,227 Proz. (12 Uhr), 0,375 Proz. (2 Uhr), 0,383 Proz. (4 Uhr), 0,197 Proz. (28. Januar 1926; 9 Uhr vormittags), 0,160 Proz. (29. Januar 1926, 11 Uhr vormittags).

Milchsäuregehalt einer Mischprobe mit Blutzuckerwerten von 0,375 Proz. bzw. 0,383 Proz.: 0,074 Proz. (vor dem Versuch: 0,042 Proz. Milchsäure).

Der 24stündige Harn beläuft sich auf 330 ccm, reagiert alkalisch und enthält 2,8 Proz. Glucose.

Der Harn vom zweiten Versuchstage: 90 ccm 3,6 Proz. Glucose. Der Harn am dritten Tage: 680 ccm 0,15 Proz. Glucose. Das Tier wurde in diesem Versuche mit unbeschränkten Mengen Weißkohl gefüttert.

Versuch 3. 3. März 1926.

Kaninchen 4 (2310 g), 44 Stunden gefastet. Blutzuckerwert: 0,152 Proz. 9 Uhr 45 Minuten bis 10 Uhr: 0,5 g Methylglyoxal in 5 ccm Wasser, intravenös. Blutzuckerwerte: 0,140 Proz. (11 Uhr, Milchsäuregehalt: 0,069 Proz.), 0,136 Proz. (12 Uhr), 0,128 Proz. (2 Uhr), 0,120 Proz. (3 Uhr 45 Minuten).

In diesem Versuch bekam das Tier kein Futter, im ganzen 130 ccm Wasser. Die 24stündige Harnmenge betrug 45 ccm, reagierte sauer, war gelee ähnlich und frei von Zucker. Der Harn wurde mit Phosphorsäure angesäuert, mit Äther perkoliert, der Äther abgedampft, der Rest in Wasser aufgenommen und titriert.

Gefunden: 0,36 g Milchsäure (berechnet: 0,625 g).

Versuch 4. 29. Januar 1926.

Kaninchen 5 (2440 g), 24 Stunden lang kein Futter. Blutzuckerwert: 0,142 Proz. 9 Uhr 30 Minuten bis 9 Uhr 40 Minuten: intravenöse Injektion von 0,25 g Methylglyoxal in 5,6 ccm Wasser gelöst. Blutzuckerwerte: 0,142 Proz. (10 Uhr 30 Minuten), 0,136 Proz. (12 Uhr 30 Minuten), 0,144 Proz. (2 Uhr), 0,140 Proz. (4 Uhr), 0,147 Proz. (30. Januar 1926, 9 Uhr vormittags).

Das Tier fastet noch 24 Stunden nach der Injektion. Kein Harnabsatz.

Versuch 5. 5. Februar 1926.

Kaninchen 5 (2440 g). Nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,148 Proz., 9 Uhr 50 Minuten bis 10 Uhr: 0,5 g Methylglyoxal intravenös, gelöst in 5,5 ccm Wasser. Blutzuckerwerte: 0,140 Proz. (11 Uhr), 0,146 Proz. (12 Uhr), 0,139 Proz. (2 Uhr), 0,152 Proz. (4 Uhr).

In diesem Versuch wurden 400 g Weißkohl gefüttert. Der am Abend abgesetzte Harn (100 ccm) reagierte alkalisch, zeigte kein Reduktionsvermögen und enthielt bloß 0,025 g Milchsäure.

Versuch 6. 4. Februar 1926.

Kaninchen 8 (2080 g), zweimal 24 Stunden lang gefastet. Blutzuckergehalt: 0,140 Proz. 10 Uhr bis 10 Uhr 5 Minuten: 0,45 g Methylglyoxal in 5 ccm Wasser intravenös. Blutzuckerwerte: 0,158 Proz. (11 Uhr), 0,162 Proz. (12 Uhr), 0,144 Proz. (2 Uhr), 0,140 Proz. (4 Uhr).

In diesem Versuch wurden 125 ccm Wasser per os zugeführt. Um 11 Uhr 30 Minuten wurden 55 ccm Harn abgesetzt, welcher sauer reagierte und nicht reduzierte.

Er enthielt 0,08 g Milchsäure. In der Nacht wurde kein Harn abgesetzt.

Versuch 7. 26. Februar 1926.

Kaninchen 4 (2830 g), nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,190 Proz. 10 Uhr 30 Minuten: subkutane Injektion von 2,83 g Methylglyoxal in 5 ccm Wasser. Blutzuckerwerte: 0,144 Proz. (11 Uhr 30 Minuten), 0,150 Proz. (2 Uhr 15 Minuten), 0,133 Proz. (3 Uhr 45 Minuten), 0,151 Proz. (27. Februar 1926, 9 Uhr vormittags). Das Tier erhielt 200 g Kohlrüben. Die Harnmenge belief sich auf 75 ccm. Keine Reduktion im Harn, auch vor dem Versuch reduzierte er nicht.

Versuch 8. 25. Februar 1926.

Kaninchen 5 (3220 g), nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,302 Proz.[1]), 10 Uhr bis 10 Uhr 25 Minuten: subkutane Injektion von 3,2 g wasserfreien Methylglyoxals in 25 ccm Sesamöl. Blutzuckerwerte: 0,213 Proz. (11 Uhr; 27 ccm reduzierenden Harns), 0,194 Proz. (12 Uhr), 0,148 Proz. (2 Uhr), 0,142 Proz. (3 Uhr), 0,143 Proz. (4 Uhr; 18 ccm Harn, welcher nicht reduziert). Im ganzen wurden 200 g Kohlrüben verabreicht. Geringe Freßlust.

Versuch 9. 11. Dezember 1925.

Kaninchen 3 (2640 g), nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,128 Proz. 12 Uhr 15 Minuten: 3 Einheiten Insulin, subkutan. 3 Uhr 15 Minuten bis 3 Uhr 45 Minuten 4,25 g Methylglyoxal, in 25 ccm Wasser per os. Um 3 Uhr 50 Minuten ging das Tier ohne Atemnoterscheinungen ein. Halsvenenblut 0,176 Proz. Glucose.

Sektion: Lungenödem, keine Stauung. Erstickungstod (überdies hochgradige Lebercoccidiose).

Versuch 10. 15. Dezember 1925.

Kaninchen 1 (2440 g), nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,143 Proz. 10 Uhr 10 Minuten: 0,595 g Methylglyoxal in 3,5 ccm Wasser per os. Blutzuckerwerte: 0,179 Proz. (10 Uhr 20 Minuten), 0,188 Proz. (10 Uhr 40 Minuten, Milchsäuregehalt: 0,070 Proz.), 0,183 Proz. (11 Uhr 15 Minuten; im Blute konnte qualitativ kein Methylglyoxal nachgewiesen werden), 0,172 Proz. (12 Uhr 10 Minuten). Keinen Harn aufgefangen.

Versuch 11. 22. Dezember 1925.

Kaninchen 1 (2440 g), nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,162 Proz. 10 Uhr: 1,19 g Methylglyoxal in 7 ccm Wasser per os. Blutzuckerwerte: 0,181 Proz. (10 Uhr 15 Minuten), 0,194 Proz. (10 Uhr 35 Minuten), 0,200 Proz. (11 Uhr 5 Minuten), 0,197 Proz. (12 Uhr).

Milchsäuregehalt einer Mischprobe der letzten drei Blutproben: 0,115 Proz. Kein Methylglyoxal im Blute. Das Tier war schlaff, fraß schlecht und setzte am selben Tage keinen Harn ab.

Am folgenden Tage war das Kaninchen normal, Harn geleeähnlich, reduziert nicht.

Versuch 12. 24. Dezember 1925.

Kaninchen 1 (2440 g), 24 Stunden lang gefastet, Blutzuckergehalt: 0,148 Proz. 9 Uhr 25 Minuten bis 9 Uhr 40 Minuten: 1,785 g Methylglyoxal in 25 ccm Wasser per os. Während kurzer Zeit Atemnot, weiters blieb das Tier vorläufig normal. Blutzuckergehalt: 0,352 Proz. (10 Uhr 20 Minuten: kein

[1]) Das Tier war sehr nervös.

Methylglyoxal nachzuweisen), 0,381 Proz. (10 Uhr 50 Minuten), 0,399 Proz. (11 Uhr 25 Minuten). Keine Freßlust, beschleunigte Atmung. 11 Uhr 45 Minuten: Harn (20 ccm) reagiert sauer, reduziert *Fehling*sche Lösung bei Erhitzen, nicht in der Kälte (kein Methylglyoxal). Glucosegehalt: 1,23 Proz. (polarimetrisch), 1,27 Proz. (titrimetrisch).

Das Tier ist in der Nacht eingegangen.

Sektion: Beiderseitiges Lungenödem, starke Lungenhyperämie.

Versuch 13. 7. Januar 1926.

Kaninchen 4 (2310 g), 24 Stunden lang gefastet. Blutzuckergehalt: 0,152 Proz. 9 Uhr 35 Minuten drei Insulineinheiten subkutan. 9 Uhr 40 Minuten bis 9 Uhr 45 Minuten: 0,72 g Methylglyoxal per os in 21 ccm Wasser. Blutzuckerwerte: 0,092 Proz. (10 Uhr 40 Minuten), 0,081 Proz. (11 Uhr 50 Minuten), (ungefähr um 1 Uhr 30 Minuten Konvulsionen), 0,076 Proz. (2 Uhr). Direkt 1 g Glucose intravenös injiziert. Wiederherstellung. Während des Versuchs kein Harnabsatz.

Versuch 14. 14. Januar 1926.

Kaninchen 4 (2310 g), nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,150 Proz. 9 Uhr 30 Minuten bis 9 Uhr 35 Minuten: 0,72 g Methylglyoxal in 20 ccm Wasser per os. Blutzuckerwerte: 0,152 Proz. (10 Uhr 30 Minuten), 0,132 Proz. (11 Uhr 30 Minuten), 0,151 Proz. (2 Uhr 15 Minuten). Kein Harn.

Versuch 15. 22. Januar 1926.

Kaninchen 4 (2310 g), 24stündiges Fasten. Blutzuckergehalt: 0,144 Proz. 9 Uhr 25 Minuten bis 9 Uhr 35 Minuten: 2,3 g Methylglyoxal in 25 ccm Wasser per os. Blutzuckerwerte: 0,125 Proz. (10 Uhr 30 Minuten), 0,125 Proz. (11 Uhr 15 Minuten), 0,146 Proz. (12 Uhr), 0,136 Proz. (2 Uhr), 0,135 Proz. (3 Uhr), 0,136 Proz. (4 Uhr). Der Harn reduziert nicht.

Versuch 16. 5. März 1926.

Kaninchen 4 (2830 g), nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,146 Proz. 9 Uhr 45 Minuten: 2,15 g Methylglyoxal in 50 ccm Wasser per os. Blutzuckerwerte: 0,170 Proz. (10 Uhr 45 Minuten), 0,157 Proz. (12 Uhr), 0,158 Proz. (2 Uhr), 0,155 Proz. (3 Uhr), 0,141 Proz. (4 Uhr). Während des Versuchs kein Harnabsatz, 75 g Kohlrüben verabreicht. Am folgenden Tage eine kleine Harnmenge, welche nicht reduzierte.

Versuch 17. 11. Januar 1926.

Kaninchen 5 (2440 g), nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,137 Proz. Um 12 Uhr 10 Minuten wurden 3 Einheiten Insulin subkutan injiziert und um 12 Uhr bis 12 Uhr 15 Minuten 0,72 g Methylglyoxal in 20 ccm Wasser per os verabreicht. Blutzuckerwerte: 0,110 Proz. (2 Uhr), 0,105 Proz. (2 Uhr 45 Minuten), 0,102 Proz. (3 Uhr 30 Minuten), 0,118 Proz. (4 Uhr 30 Minuten). Kein Harn.

Versuch 18. 20. Januar 1926.

Kaninchen 5 (2440 g). 24 Stunden gefastet. Blutzuckergehalt: 0,148 Proz. 9 Uhr 30 Minuten bis 9 Uhr 35 Minuten: 1,564 g Methylglyoxal in 20 ccm Wasser per os. Blutzuckerwerte: 0,140 Proz. (10 Uhr 30 Minuten), 0,146 Proz. (11 Uhr 15 Minuten), 0,138 Proz. (12 Uhr), 0,146 Proz. (2 Uhr 15 Minuten), 0,134 Proz. (4 Uhr).

Der Harn reduziert nicht.

Versuch 19. 25. Januar 1926.

Kaninchen 5 (2440 g), nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,137 Proz. 9 Uhr 30 Minuten bis 9 Uhr 45 Minuten: 3,1 g Methylglyoxal in 35 ccm Wasser per os. Blutzuckerwerte: 0,138 Proz. (10 Uhr 30 Minuten), 0,150 Proz. (11 Uhr 15 Minuten; Harn keine Reduktion), 0,136 Proz. (12 Uhr; Atemnot, frißt nicht). Milchsäuregehalt einer Mischprobe der letzten sechs Blutproben: 0,129 Proz.

Versuch 20. 19. Januar 1926.

Kaninchen 7 (1700 g), nicht gefastet. Blutzuckergehalt: 0,130 Proz. 2 Uhr 20 Minuten bis 2 Uhr 25 Minuten: 1,38 g Methylglyoxal in 20 ccm Wasser per os. Blutzuckerwerte: 0,150 Proz. (3 Uhr 25 Minuten), 0,168 Proz. (4 Uhr 5 Minuten), 0,177 Proz. (4 Uhr 50 Minuten). Der Harn im Anschluß an die letzte Blutprobe reduziert nicht.

Versuch 21. 26. Januar 1926.

Kaninchen 7 (1700 g), 24 Stunden gefastet. Blutzuckergehalt: 0,125 Proz. 9 Uhr 30 Minuten bis 9 Uhr 45 Minuten: 3,1 g Methylglyoxal in 35 ccm Wasser per os. Einige Atemnot. Blutzuckerwerte: 0,202 Proz. (10 Uhr 45 Minuten), 0,330 Proz. (2 Uhr 15 Minuten), 0,344 Proz. (3 Uhr 45 Minuten).

Das Tier war sehr lustlos, nahm kein Futter auf und ist während der Nacht eingegangen.

Sektion: Hochgradige, akute Entzündung der Magen- und Duodenalschleimhaut. Keine Lungenveränderungen.

Versuch 22. 9. März 1926.

Kaninchen 9 (2550 g), 18 Stunden lang gefastet. Blutzuckergehalt: 0,142 Proz. 9 Uhr 45 Minuten: 3,825 g Methylglyoxal per os (in 90 ccm Wasser). Blutzuckerwerte: 0,223 Proz. (10 Uhr 45 Minuten), 0,306 Proz. (12 Uhr). Nimmt kein Futter auf. Ein wenig Harn geht verloren. Um 2 Uhr wurde versucht, eine Blutprobe zu nehmen; die Ohrvenen sind jedoch blutleer; starke Benommenheit des Sensoriums (das Tier reagiert nicht mehr auf äußere Reize). Unveränderter Zustand bis 4 Uhr nachmittags. Das Tier ist verendet. Der aus der Blase entleerte Harn enthält Glucose. Im Halsvenenblut 0,204 Proz. Glucose.

Sektion: Geringe Veränderungen der Trachealschleimhaut, starke Leber- und Nierendegeneration.

Kein Lungenödem und Magen-Darmveränderungen. Anämischer Kadaver.

Versuch 23. 11. März 1926.

Kaninchen 10 (1820 g), 18 Stunden gefastet. Blutzuckergehalt: 0,112 Proz. 10 Uhr 30 Minuten: 6,6 g Methylglyoxaldiacetat in 50 ccm Wasseremulsion per os (die Dosis kommt mit 1,5 g Methylglyoxal pro Kilogramm überein). Vor dem Eingeben reduziert der Harn nicht. Blutzuckergehalt: 0,263 Proz. (11 Uhr 45 Minuten). Um 2 Uhr wurde vergeblich getrachtet, eine Blutprobe zu entnehmen, wegen der Blutleere der Ohrvenen. Schlechtes Allgemeinbefinden. Das Tier ist um 3 Uhr 30 Minuten verendet. Keine Atemnot oder Konvulsionen.

Die Harnblase ist leer. Halsvenenblut: 0,259 Proz. Glucose. Sektion: Lungen normal, Herzparalyse. Leber und Nieren makroskopisch nicht degeneriert. Ziemlich gerötete Magenschleimhaut mit umschriebenen

Blutungsherdchen, auf der Magenmucosa liegt eine feste, zähe Schleimschicht. Die ersten 30 cm des Dünndarms wiesen eine weißlich-körnige, wie gegerbt aussehende Mucosa auf, wie man dies beim Kaninchen niemals zu sehen bekommt. In diesem Teile fand sich eine reichliche Schleimmenge vor, welche in den normalen Darmabschnitten nicht vorlag.

Die Untersuchungsergebnisse.

Vorliegende Untersuchung zeigt, daß das Methylglyoxal im normalen Organismus bei weitem nicht so leicht als das Dioxyaceton aufgenommen wird. Die auf Grund der Untersuchungen *Dakins* nach Methylglyoxalgaben zu erwartende Milchsäurevermehrung im Blut und Harn, (welche auf direktem Übergang des Methylglyoxals in Milchsäure unter der Fermentwirkung der Glyoxalase aus dem Blute und den Geweben beruht), konnte in einigen Fällen festgestellt werden (Versuche 2, 3, 11, 19).

Die Versuche wurden durch die Giftigkeit des Methylglyoxals stark beeinträchtigt.

Die intravenöse Injektion von 0,34 g Methylglyoxal pro Kilogramm Lebendgewicht führte schnell zum Tode (Versuch 1). Die intravenöse Einverleibung 0,1 g Methylglyoxals pro Kilogramm Körpergewicht blieb wirkungslos (Versuch 4). In zwei Fällen (Versuch 5 und 6) führten 0,21 g bzw. 0,22 g pro Kilogramm Gewicht zu geringgradiger Milchsäureausscheidung im Harn. In zwei anderen Fällen ergab die intravenöse Injektion von 0,22 g Methylglyoxal pro Kilogramm, im ersten Falle (Versuch 3) Milchsäureausscheidung im Harn (mit entsprechendem Blutmilchsäureanstieg), welche zur größeren Hälfte mit der aus dem einverleibten Methylglyoxal berechneten Menge übereinstimmte, im letzten Falle (Versuch 2) trat Hyperglykämie (maximal nach 6 Stunden, die Blutzuckererhöhung wirkte noch 24 Stunden nach), entsprechende Erhöhung der Blutmilchsäure und Glykosurie auf, welche 48 Stunden andauerte.

Die Zuckererhöhung beruht nicht auf direktem Übergang des Methylglyoxals in Zucker. Die ausgeschiedene Glucosemenge ist ja viel größer als aus der zugeführten Menge gebildet werden kann. Es muß also dem Methylglyoxal eine allgemeine Wirkung mit bestimmten Veränderungen im Körper, welche den abnormen Zuckerstoffwechsel bedingen, zugeschrieben werden. Hierfür sprechen auch die Sektionsergebnisse der eingegangenen Tiere.

Das Fasten scheint die Tiere weniger empfindlich zu machen. Die nur kleine Versuchsreihe erlaubt aber keine sichere Feststellung des Fasteneinflusses auf die Methylglyoxalwirkung. Die subkutane Einverleibung eines Grammes Methylglyoxals pro Kilogramm Körpergewicht, entweder in wässeriger Lösung (Versuch 7) oder in Emulsion in Sesamöl (Versuch 8), ergab nichts weiteres als eine anfängliche Blutzuckererhöhung im zweiten Falle. Ob sie dem direkten Einfluß des Methylglyoxals zu-

geschrieben werden muß, ist nicht sicher, weil sich das Tier während der letzten Behandlung stark aufregte. Subkutan injiziert kann das Kaninchen also wenigstens dreimal soviel betragen als bei intravenöser Injektion.

Die Verabreichung des Methylglyoxals per os zeigte bei Kaninchen ziemlich große individuelle Unterschiede. Fest steht die letale Dosis des Methylglyoxals mit etwa 1,5 g pro Kilogramm Körpergewicht (Versuch 9, 21, 22). Der Tod erfolgt unter auffälligen Erscheinungen. Abgesehen vom akuten Falle im Versuch 9, wo Eingaben von 1,6 g pro Kilogramm Körpergewicht den Tod innerhalb 5 Minuten herbeiführte (ohne daß eine Blutzuckererhöhung auftrat), wobei man eine akute Vergiftung annehmen muß (das Tier war vielleicht wegen des zuvor einverleibten Insulins empfindlicher geworden), erfolgte in den Fällen Versuch 21 und 22 der Tod erst nach Verlauf von vielen Stunden nach der Methylglyoxaleinverleibung. Der Blutzuckergehalt war in diesen Fällen deutlich erhöht. Im Versuch 22 war unmittelbar nach dem Tode des Tieres der Blutzuckerwert herabgesunken. Überdies wurden die Blutgefäße blutarm befunden, auch im Versuch 23, wobei Methylglyoxaldiacetat gebraucht wurde. Das Diacetat entfaltet eine dem Methylglyoxal ähnliche Wirkung (es hydrolysiert leicht in wässeriger Lösung).

1,27 g Methylglyoxal hatte keine Erhöhung des Blutzuckergehalts zur Folge (Versuch 19), doch wurde Lustlosigkeit, erhöhte Atemfrequenz und Milchsäureanstieg im Blute beobachtet. Kleinere Dosen Methylglyoxal als 1,27 g pro Kilogramm Körpergewicht gaben keine auffälligen Veränderungen (Versuch 10, 14, 15, 16, 17, 18 und 20) mit Ausnahme zweier Fälle, bzw. Versuch 11, wobei nach Gaben von 0,49 g pro Kilogramm eine deutliche Steigerung des Blutzucker- und Blutmilchsäuregehalts, einhergehend mit schlechtem Allgemeinbefinden, wahrgenommen wurden, und im Versuch 12, wobei nach Eingeben von 0,73 g Methylglyoxal pro Kilogramm eine starke Blutzuckersteigerung und Glucoseausscheidung im Harn festgestellt wurden. (Das Tier ist während der Nacht eingegangen.)

Aus den Fällen der Methylglyoxalverabreichung per os ergibt sich kein bestimmter Einfluß des Fastens. Dagegen könnte man aus dem Vergleich der Versuche 2 und 3 ableiten, daß die Blutzuckererhöhung für den Fall, daß das Tier gefastet hatte, bei intravenöser Einverleibung ausbleibt. In vier Fällen wurde entweder gleichzeitig oder einige Stunden früher Insulin bei dem Versuchstiere eingespritzt. Aus den Versuchen 9 und 17 kann mit Rücksicht auf unsere große Erfahrung bezüglich der Insulinwirkung beim Kaninchen keine Schlußfolgerung gezogen werden. Im Versuch 13 (0,31 g Methylglyoxal pro Kilogramm + 3 Insulineinheiten) traten Konvulsionen bei einem Blutzuckergehalt auf, wobei

sie sonst niemals beobachtet werden. (Der Grenzwert für das Auftreten von Konvulsionen liegt beim Kaninchen bei einer Blutzuckerkonzentration von ungefähr 0,050 Proz.) Inwiefern dies auf der Insulinwirkung beruht, konnte nicht sichergestellt werden. Bemerkenswert wäre noch, daß das Methylglyoxal — im Gegensatz zur Glucose — die Hypoglykämie nicht behebt.

Im Versuch 23 wurde an Stelle des Methylglyoxals das Diacetat[1]) per os im Verhältnis zu 1,5 g Methylglyoxal pro Kilogramm angewendet. Auch hier trat nach 6 Stunden der Tod ein.

Die *Vergiftung* bei intravenöser Applikation des Methylglyoxals äußert sich beim Kaninchen folgendermaßen: Bei subletalen Dosen (etwa 0,2 g pro Kilogramm Körpergewicht), Lustlosigkeit, Nervosität, verminderter Harnabsatz, bei letalen Dosen (etwa 0,3 g pro Kilogramm) plötzlicher Tod unter Krämpfen. Sektion: Lungenödem und Lungenstauung[2]). Die subkutane Injektion von 1 g pro Kilogramm Körpergewicht (subletal): Lustlosigkeit, verminderte Freßlust. Subletale Dosen per os (ungefähr 1,3 g pro Kilogramm Körpergewicht; Ausnahmefälle!) führten zu Lustlosigkeit, erhöhter Atmungsfrequenz, schlechtem Allgemeinbefinden, Sistierung der Freßlust, vermindertem Harnabsatz. Die letale Dosis (etwa 1,5 g pro Kilogramm Körpergewicht) führt in der Regel nach 6 Stunden zum Tode, wobei einige Stunden vor dem Eintritt des Todes die Blutleere der Ohrvenen auffällt. Erbrechen wurde niemals beobachtet. Diejenigen Versuchstiere, welche nach der Methylglyoxaleinverleibung längere Zeit fortgelebt hatten, zeigten gewöhnlich keine Lungenveränderungen. Der eingebrachte Stoff bewirkte eine starke Reizung der Magenschleimhaut und im vorderen Darmabschnitt. Die Magenschleimhaut war in zwei Fällen intakt geblieben, in den übrigen Fällen wurde erhöhte Schleimabsonderung, gewöhnlich auch eine diffuse Rotheit der Wand festgestellt. Einmal waren punktförmige Schleimhautblutungen aufgetreten. Heftigere Veränderungen wurden im vorderen Dünndarmabschnitt gefunden.

Nur einmal wurde eine leichte Rötung der Schleimhaut erhoben, zweimal hochgradige Rötung, während zweimal eine oberflächliche Schleimhautnekrose vorlag. Hierzu gesellte sich noch eine starke Schleimabsonderung. Die Untersuchung ergab Leber- und Nierenepitheldegeneration.

Das niedrigere Homologon des Methylglyoxals ($CH_3—CO—CHO$), Glyoxal ($HCO—CHO$) hat bereits *Pohl*[3]) untersucht. Er fand, daß die Verabreichung per os solchen Brechreiz auslöste, daß quantitative Versuche unmöglich waren.

Sogar die Bisulfitverbindung ist nach *Pohl* giftig. 0,7 g tötete ein 1050 g schweres Kaninchen in 24 Stunden. Ein 7 kg schwerer Hund verendete nach subkutaner Injektion von 0,2 g.

---

[1]) Über diesen bisher unbekannten Körper wird innerhalb kurzer Zeit eine Mitteilung im Rec. Trav. Chim. erscheinen.

[2]) Die Sektionen wurden vom Herrn *J. H. ten Thye*, Konservator am Veterinärpathologischen Institute, verrichtet, wofür wir ihm hiermit unseren Dank aussprechen.

[3]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **37**, 418, 1896.

Methylglyoxal-Diacetat ruft in letalen Dosen (3,6 g pro Kilogramm) genau dieselben Erscheinungen hervor wie das Methylglyoxal, vermutlich wegen der schnellen Zersetzung im Magen zu Methylglyoxal und Essigsäure. Eine gegenüber dem Methylglyoxal geringere Giftigkeit stellte sich nicht heraus. Außer obiger Wirkung greift das Methylglyoxal stark die Haut an. Nach der Injektion in die Ohrvenen trat bereits innerhalb einiger Minuten starke Schwellung an der Injektionsstelle auf, welche nach Verlauf einiger Tage verschwand. Der betreffende Teil des Ohres ist nach Verlauf einiger Tage abgestorben. Bei subkutaner Einverleibung traten ähnliche Veränderungen an der Injektionsstelle auf. Haut und Haare waren überdies gelb gefärbt.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Methylglyoxal wurde intravenös, subkutan und per os an Kaninchen verabreicht.

2. Die im Anschluß hieran auftretende Hyperglykämie und -glykosurie beruhen nicht auf direktem Übergang des Methylglyoxals in Glucose, sondern auf bestimmten Veränderungen des Körpers durch das Methylglyoxal. Bei Zufügung letaler Dosen treten charakteristische Vergiftungssymptome auf.

3. 0,3 g Methylglyoxal pro Kilogramm Körpergewicht — intravenös — stellte sich als die letale Dosis für das Kaninchen heraus; die subkutane Einverleibung eines Gramms pro Kilogramm Gewicht ist nicht tödlich; bei der Verabreichung per os führten 1,5 g pro Kilogramm Gewicht innerhalb 6 Stunden zum Tode.

4. Methylglyoxal-di-acetat unterscheidet sich in der physiologischen Wirkung nicht vom Methylglyoxal.

Untersuchungen über die Bedeutung der Blutreaktion für die Lungenventilation.

Von

Rich. Ege und **Vald. Henriques**, Kopenhagen.

(Eingegangen am 19. Juli 1926.)

Die Reaktion des Blutes ist nach *Wintersteins*[1]), *Hasselbalchs*[2]) und mehrerer anderer Auffassung der für die Respiration ausschlaggebende automatische Regulator. Zur Unterstützung dieser Annahme kann angeführt werden, daß man mit Hilfe dieser Theorie zu einer anscheinend einfachen Erklärung der Tatsache gelangen würde, daß sowohl Anhäufung von Kohlensäure als auch in ausgesprocheneren Fällen Mangel an Sauerstoff — der zur Bildung von Milchsäure in den Geweben führt — eine vermehrte Ventilation hervorrufen.

Diese Theorie wird noch von *Walters*[3]) Untersuchungen gestützt, wonach man bei experimenteller Säurevergiftung eine Vermehrung der Ventilation und Herabsetzung der CO_2-Spannung in den Alveolen erzielt, was auch beim Diabetes der Fall sein soll.

Schließlich ist zu erwähnen, daß man, nach *Hasselbalch*, gleichviel, ob man von Fleischdiät oder von überwiegend vegetabilischer Kost lebt, die gleiche Reaktion im Blute findet. Die Kohlensäurespannung hingegen ist im ersteren Falle niedriger als im letzteren.

Die Lehre von der Reaktion des Blutes als hormonaler Regulator der Atmung ist — dank der einfachen Deutung, welche sie einer Reihe von Umständen gibt, sowie durch viele Versuche unterstützt — im Begriff, als physiologische Wahrheit in die meisten Lehr- und Handbücher aufgenommen zu werden.

Eine Reihe von Untersuchungen der letzten Jahre scheint jedoch zu zeigen, daß die Sache bei weitem nicht so einfach ist, wie allgemein angenommen; es muß denn auch erwähnt werden, daß ein ausgesprochener Sauerstoffmangel eine beträchtliche Ventilationsvermehrung gibt; untersucht man aber das Blut, so wird man finden, daß sich die Reaktion des Blutes nicht, wie man ursprünglich anzunehmen geneigt war, infolge der Milchsäureanhäufung im Blute nach der sauren, sondern merkbar nach der basischen Seite hin verschoben hat, wobei dennoch eine stark vermehrte Ventilation gefunden wird.

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **138**, 167, 1911.
[2]) Diese Zeitschr. **46**, 403, 1912.
[3]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **7**, 148, 1917.

Diese Schwierigkeit sucht *Winterstein*[1]) durch den Hinweis zu beseitigen, daß es nicht so sehr auf die Reaktion des Blutes als auf jene des Zentrums ankommt, weshalb zwischen einer durch eine Steigerung der C_{H^+} des Blutes, durch Einatmen CO_2-reicher Luft, Injektion von Säure in das Blut usw. entstandenen, hämatogen bedingten Ventilationsvermehrung und der durch die infolge der z. B. bei Sauerstoffmangel möglicherweise eintretenden Akkumulation von sauren Stoffwechselprodukten hervorgerufenen zentrogenen Hyperventilation unterschieden wird. Die gebildete Säure wird nur langsam in das Blut einzudringen vermögen, welches infolge der durch die Hyperventilation herbeigeführten Kohlensäureausspülung basischer wird als normal.

Ein ähnlicher Gedanke wird von *Gesell*[2]), der besonderen Wert auf die Kreislaufverhältnisse legt, geltend gemacht; wenn die Blutzirkulation durch das Respirationszentrum herabgesetzt ist, so wird das eine lokale Reaktionsverschiebung nach der sauren Seite herbeiführen können, wodurch die Atmung forciert wird.

Infolge der dadurch bedingten Kohlensäureausspülung wird man die Reaktion des arteriellen Blutes in basischer Richtung verschoben finden.

Die Reaktion des arteriellen Blutes bestimmt nicht die Lungenventilation, sie kann hingegen von der Lungenventilation bestimmt sein, wie das auch von *Hasting*, *Coombs* und *Pike*[3]) experimentell erwiesen ist.

Zahlreiche direkte Versuche neueren Datums sprechen übrigens gegen die *Winterstein-Hsaselbalch*sche Reaktionstheorie.

Hooker, *Wilson* und *Connet*[4]) untersuchten die Wirkung, welche defibriniertes Blut, dessen Reaktion in gleich hohem Grade nach der sauren Seite 1. durch HCl-Zusatz, 2. durch Sättigung mit CO_2 (5 Proz. z. B.) verschoben ist, auf das Reaktionszentrum ausübt. Sie finden alsdann eine größere Ventilationsvermehrung mit dem CO_2-Blut als mit dem HCl-Blut und messen deshalb der Kohlensäure eine spezifische Wirkung auf das Respirationszentrum bei; wird die Reaktion nach der basischen Seite verschoben, so wird die Respiration herabgesetzt.

Da die Reizbarkeit des Respirationszentrums bedeutenden Schwankungen unterworfen ist — und zwar ausgesprochener Verminderung während des Versuchs —, so muß dieselbe kontrolliert werden, was *Hooker*, *Wilson* und *Connet* dadurch bewerkstelligten, daß sie die Wirkung des Kohlensäureblutes sowohl vor als auch nach den Versuchen mit dem Salzsäureblut bestimmten.

Scott[4]) findet, daß das Respirationszentrum von Kohlensäureeinatmung beeinflußt wird, und zwar tatsächlich auf die nämliche Weise, gleichviel, ob die C_{H^+} des Blutes normal oder durch eine vorhergehende Na_2CO_3-Injektion nach der basischen Seite verschoben ist.

Im Gegensatz zu *Hooker*, *Wilson* und *Connet* findet *Collip*[5]), daß eine intravenöse Einspritzung großer Mengen von 5proz. $NaHCO_3$ eine sehr starke Ventilationsvermehrung hervorruft, trotzdem die Reaktion des Blutes beträchtlich nach der basischen Seite hin verschoben sein muß.

---

[1]) Pflügers Archiv **187**, 293, 1921.
[2]) Physiological Rev. 1925.
[3]) Amer. Journ. of Physiol. **57**, 104, 1921.
[4]) Ebendaselbst **43**, 351, 1917.
[5]) Ebendaselbst **47**, 43, 1918.

Dale und *Evans*[1]), die die Wirkung der Reaktionsverschiebungen und Kohlensäuretensionsveränderungen auf die Vasomotoren untersuchten, studierten gelegentlich die Ventilationsveränderungen und kamen zu dem Ergebnis, daß nicht die Reaktion des Blutes, sondern die Kohlensäurespannung desselben die Regulation des Atmungszentrums zu besorgen scheint. *Mellanbye*[2]) ist der nämlichen Ansicht.

Im Gegensatz hierzu behauptet A. *Fleisch*[3]), daß eine Säureinfusion ein von einer Vermehrung der Ventilation begleitetes Ansteigen der C_{H^+} im arteriellen Blute hervorruft. Da die CO_2-Spannung im arteriellen Blute gleichzeitig fällt, so ist hiermit erwiesen, daß die Ventilation nicht von der CO_2-Spannung, sondern von der C_{H^+} des Blutes oder des Respirationszentrums reguliert wird.

Wir haben hier nur einige wenige der Untersuchungen erwähnt, die das Problem, welches den Gegenstand unserer Arbeit bildet, behandeln, und verweisen im übrigen auf die die Frage behandelnden Monographien und Übersichtsartikel[3]).

Bei einigen früher veröffentlichten Versuchen[4]) über die experimentelle Säurevergiftung, wo wir die „reduzierte Wasserstoffionenkonzentration" des Blutes, d. h. die C_{H^+} bei 40 mm CO_2 und 37° festgestellt hatten, glaubten wir eine Reihe von Beobachtungen gemacht zu haben, die mit der *Winterstein-Hasselbalch*schen Theorie von der Reaktion des Blutes als Regulator der Atmung schwer in Einklang zu bringen waren. Bei diesen Versuchen fanden wir nämlich, daß die reduzierte Wasserstoffionenkonzentration sich bis auf $10^{-6,8}$ verschieben ließ, ohne daß ausgesprochene Hyperpnöe zu spüren gewesen wäre.

Da man nun nach *Haldanes* Versuchen wußte, daß eine Vermehrung der alveolaren Kohlensäuretension um 1,5 mm die alveolare Ventilation um 100 Proz. zu steigern vermochte, womit eine p_H-Verschiebung von 0,01 bis 0,02[4]) verbunden war, so hätte man in den obengenannten Versuchen eine ganz außerordentliche Respirationsvermehrung erwarten müssen, wenn das Respirationszentrum anderen Säuren gegenüber ebenso erregbar wäre wie der Kohlensäure gegenüber.

Wir wurden dadurch zu einer Untersuchung der aktuellen Reaktion des Blutes bei der experimentellen Säurevergiftung geführt und fanden, daß es — durch Injektion von Säure — möglich war, erheblich größere Schwankungen in der Reaktion des Blutes hervorzurufen als man nach

---

[1]) Journ. of Physiol. **56**, 38, 1921.

[2]) Pflügers Archiv **190**, 270 bis 279, 1921.

[3]) *Haldane*, Respiration. University Press 1922; Medical Research Council, The Acid-Base Equilibrium of the Blood, Spc. Report Series, Nr. 72; *Gesell*, Physiol. Rev. 1925; Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie. II. Bd. Atmung. Herausgegeben von *Bethe* usw. II. Bd. Atmung, G. *Liljestrand*.

[4]) C. r. Soc. Biol. **75**, 389, 1921.

Haldanes Versuchen bisher zu glauben geneigt gewesen war, und doch war die Vermehrung der Ventilation recht gering.

Gleichzeitig zeigte es sich, daß — und darauf hatte *Haldane* als erster aufmerksam gemacht — eine Einatmung von Kohlensäure die Ventilation beträchtlich vermehrte, trotzdem die Reaktionsverschiebungen nach der sauren Seite bei diesem Eingriff sehr gering waren.

Das Respirationszentrum zeigte sich mit anderen Worten einer durch eine Kohlensäureeinatmung hervorgerufenen Reaktion gegenüber weit reizbarer als einer durch Einspritzung anderer Säuren hervorgerufenen Reaktion gegenüber.

Wie diese Versuche zu deuten sind, mag schwer zu entscheiden sein, die Realität der Sache selbst aber — daß die infolge einer durch Einatmung CO_2-reicher Luft hervorgerufenen bestimmten Verschiebung in der C_{H^+} des Blutes erfolgende Ventilationsvermehrung erheblich größer ist als die durch Injektion gewisser anderer Säuren entstandene — dürfte schwerlich zu leugnen sein.

Um die Versuche miteinander vergleichen zu können, sind folgende Werte als für Kaninchen von 2 kg Gewicht gültig angesetzt worden:

C_{H^+}	p_{H^+}	Ventilation pro Minute ccm	Alveolare Ventilation pro Minute ccm	Alveolare CO_2-Spannung mm
$7 \cdot 10^{-8}$	7,15	500	300	39

Der schädliche Raum ist auf $2 + 2$ ccm geschätzt; von diesen entfallen die 2 ccm auf den eigenen schädlichen Raum des Tieres, während die anderen 2 ccm von den Ventilen herrühren; es wird angenommen, daß die erste Größe mit dem Gewicht des Tieres proportional variiert, und diese Korrektion ist für die alveolare Ventilation durchgeführt worden.

Man muß sich allerdings klarmachen, daß man sich, da die Reizbarkeit des Respirationszentrums nicht konstant ist — was namentlich von *Lindhard*[1]) betont wird — nicht damit begnügen kann, die Reizbarkeit des Zentrums für Kohlensäure ein für allemal festzustellen und die gefundene Reizbarkeit bei späteren Versuchen, wo der Einfluß anderer Faktoren auf die Ventilation untersucht werden soll, als Kontrolle zu benutzen.

Bei jedem einzelnen Versuch sollten stets Untersuchungen mit Kohlensäureeinatmung und abwechselnd z. B. mit Säureinjektion angestellt werden, damit die Reizbarkeit des Zentrums die ganze Zeit als einigermaßen bekannt gelten kann.

[1]) Journ. of biol. Chem. **52**, 501, 1922.

Experimenteller Teil.

Die in den nachstehenden Versuchen angewandte Technik ist nicht immer die gleiche gewesen, sie stimmt aber in der Hauptsache in folgendem überein:

Als Versuchstiere wurden in den meisten Fällen Kaninchen benutzt, einzelne Versuche wurden aber an Hunden und Menschen ausgeführt.

In einigen Fällen wurde Urethan (1 bis 1,5 bis 2,5 g pro Kilogramm), in anderen Fällen dahingegen keine Narkose angewandt.

Zur Blutprobeentnahme wurde eine Kanüle in die Carotis und zur Einspritzung von Säure oder Base eine solche in die V. jugularis eingebunden. Die Injektion erfolgte stets mit konstanter Geschwindigkeit. Die Injektion wurde 2 Minuten vor der Blutprobeentnahme unterbrochen. In den Fällen, wo die Säure oder Base in den Darmkanal eingeführt wurde, geschah dies durch eine in das Duodenum eingebundene Glaskanüle. Das Tier atmet durch eine Trachealkanüle und Ventile; kohlensäurehaltige Luft und sauerstoffarme Luft werden in einem großen Spirometer hergestellt, woraus das Tier einatmet. Die Ventilation wird mittels einer Gasuhr gemessen. Das Kohlensäureprozent der Ausatmungs- (und der Einatmungs-) Luft wurde in vielen Fällen bestimmt.

Die Bestimmung der aktuellen Reaktion des Blutes ist nach der von *Cullen*[1]) angegebenen Methode, die sich durch große Einfachheit auszeichnet, kolorimetrisch vorgenommen worden. In den Tierversuchen wurde das arterielle Blut direkt in einer Stangenpipette von 2 ccm entnommen; die Proben (0,5 ccm) wurden in das Zentrifugenglas (etwa 12 ccm), welches 9,5 ccm 0,9proz. NaCl (eingestellt auf γ_H 7,3 bis 7,4) und 0,4 ccm Phenolrot enthielt, entleert. Die Flüssigkeit wird unmittelbar nach der Abmessung mit einer zentimeterhohen Schicht gereinigten Paraffinöls bedeckt, um die Kohlensäureaufnahme oder -abgabe zu vermindern, wobei die Paraffinschicht als Deckel wirkt, so daß die Kohlensäure nur durch Diffusion durch besagten Deckel abgegeben oder aufgenommen werden kann. Die Gläser werden bei 18° im Wasserbad gehalten. Die Kontrollgläser enthalten 10 ccm 0,9proz. NaCl, aber keine Indikatorlösung. Wenn das Blut in den Gläsern abgemessen ist, was mit der Pipette unter der Paraffinschicht geschieht (der oberste und der unterste Teil der Säule wird entweder nicht oder zu Kontrollzwecken verwendet), werden Blut und Flüssigkeit durch Umrühren miteinander vermischt; soweit möglich, werden die Proben bei 18° im Wasserbad gehalten. Die Blutkörperchen werden innerhalb weniger Minuten in einer gewöhnlichen Zentrifuge (etwa 3000 Umdrehungen in der Minute, Radius 15 cm) abzentrifugiert.

Standardlösungen werden ebenfalls bei 18° gehalten. Die Bestimmungen werden von zwei bis drei Personen ausgeführt und können — durch Einschaltung — mit einer Genauigkeit von 0,02 bis 0,03 in p_H durchgeführt werden.

Die Bestimmung ist mit einem von der Temperatur bedingten systematischen Fehler behaftet. Der Korrektionsfaktor wird durch Sättigung des Blutes mit Kohlensäure von bekannter Tension bei 37° bestimmt, wonach die Reaktion 1. kolorimetrisch bei 18° und 2. durch Berechnung nach *Hasselbalch-Henderson-Warburgs*[2]) Formel ermittelt wird; wir finden

[1]) Journ. of biol. Chem. **52**, 501, 1922.
[2]) *Warburg*, Biochem. Journ. **16**, 153, 1922.

alsdann, daß 0,4 der (zwischen 0,39 bis 0,42) durch Kolorimetrie bei 18° gefundenen p_H abzuziehen ist, um zu der p_H des Blutes bei 38° zu gelangen. Erfolgt die Sättigung bei der nämlichen Temperatur (18°), wie die Kolorimetrie, so ist die Korrektion = 0.

Die Abweichungen der für das Blut von Hund, Menschen und Kaninchen gefundenen Korrektionskonstanten sind nicht größer, als daß sie Versuchsfehlern zugeschrieben werden können (eine bis zwei Bestimmungen) — für den Hund haben wir 0,38, für Kaninchen und Menschen 0,38 bis 0,42 gefunden —; für diese beiden Blutsorten haben wir mit 0,40 korrigiert. Die von uns ermittelten Konstanten stimmen nicht ganz mit denen *Cullens* und *Cullen* und *Druckers*[1]) überein; da wir nur wenige Bestimmungen zur Verfügung, unsere Pufferlösungen auch nicht elektrometrisch kontrolliert haben, legen wir kein Gewicht darauf; da es für unsere Untersuchungen ohne Belang ist, haben wir auch keine größere experimentelle Arbeit machen wollen, um zu untersuchen, auf welchem Umstand die Abweichungen beruhen. Es muß zudem bemerkt werden, daß die Korrektionskonstante innerhalb der nämlichen Tierart[2]) variieren kann.

Nachdem die erforderliche Operation ausgeführt ist, wird das Tier sogleich mit Hilfe der Trachealkanüle und der Ventile mit der Gasuhr in Verbindung gesetzt, und diese Verbindung wird während des ganzen Versuchs aufrecht erhalten; dies Verfahren erscheint uns besser als das von *Fleisch*[3]) angewandte, wo das Tier, von den ganz kurzen Versuchsperioden, wo man die Ventilation festzustellen wünscht, abgesehen, frei ins Zimmer ausatmet. Anfangs ist die Respiration des Tieres etwas forciert, die Versuche werden aber nicht begonnen, ehe die Ventilation nahezu normal ist. Während der Versuche sind Respirationszahl und Volumen stets in Perioden von 1 Minute kontrolliert. Die angeführten Zahlen drücken die Durchschnittswerte innerhalb der einzelnen Versuchsperioden aus.

Bei der Bewertung der Versuche über die Wirkung von Säureinjektionen ist in Betracht zu ziehen, daß die Möglichkeit systematischer Irrtümer besteht, die dazu führen, daß man den Einfluß der injizierten Säuren größer findet, als ihnen als Säuren eigentlich zukommt; Kontrollversuche mit Injektion entsprechender Mengen 0,9proz. NaCl zeigen nämlich, daß eine solche Injektion bei einigen Versuchstieren deutliche Ventilationsvermehrung (bis 50 Proz.) herbeiführt. Dieser eventuelle Fehler dürfte allerdings lediglich dazu beitragen, den Unterschied, der zwischen der Wirkung von Kohlensäure und anderen Säuren besteht, zu verwischen. Die meisten unserer Versuche sind mit Flüssigkeitsinjektion in das Gefäßsystem und nur einzelne mit Injektion in den Darmkanal ausgeführt worden. Auch bei diesem Verfahren besteht die Möglichkeit von Trugschlüssen; wenn die Lösung zu konzentriert ist, erfolgt ein Austritt von Wasser in den Darmkanal des Tieres, wodurch in ausgeprägteren Fällen eine Respirationsherabsetzung und zuletzt der Tod des Tieres herbeigeführt werden kann.

Da wir uns die Wirkung der Kohlensäureeinatmung als Maßstab für die Reizbarkeit des Respirationszentrums zunutze machen, müssen wir das Verhältnis zwischen CO_2-Einatmung, den hervorgerufenen Reaktions-

---

[1]) *Cullen* und *Drucker*, Journ. of biol. Chem. **64**, 221, 1925.
[2]) *Cullen*, *Keeler* und *Robinson*, ebendaselbst **66**, 307, 1925.
[3]) Pflügers Archiv **190**, 270, 1921.

verschiebungen sowie den durch die Kohlensäureeinatmung herbeigeführten Ventilationsanstieg kontrollieren.

Von besonderer Bedeutung für unsere Versuche ist die Feststellung der Reizbarkeit gegenüber hohen Kohlensäureprozenten, wenn die Reaktion des Blutes erheblich nach der sauren Seite hin verschoben ist. Das Ergebnis der Untersuchungen ist aus den nachstehenden Tabellen ersichtlich.

Das Verhältnis zwischen dem CO_2-Proz. der eingeatmeten Luft, der Reaktion des Blutes und der Ventilation.
Kaninchen, 1 g Urethan pro Kilogramm.

Nr.	Inspiration CO_2-Proz.	p_{H^+}	C_{H^+} Proz.	Ventilation Proz.	Alveolare Ventilation Proz.
1	0	7,20	90	104	119
2	2,1	—	—	152	192
3	5,6	7,17	98	350	528
4	6,4	7,13	106	345	500
5	20,4	6,63	430	200	320
6	29	6,48	470	162	262
7	4,9	6,94	165	290	400

Der Versuch zeigt, daß sehr hohe Kohlensäureprozente in der eingeatmeten Luft eine erheblich schwächere Wirkung auf die Ventilation haben als die etwas niedrigeren Kohlensäureprozente, trotz — oder vielleicht gerade wegen — der durch die Einatmung der CO_2-reichen Luft herbeigeführten, gewaltigen Reaktionsverschiebung. Die angeführten Versuche sind in der hier angegebenen Zeitfolge ausgeführt worden. Periode 7, wo nochmals 5 Proz. CO_2 gegeben wurde, zeigt, daß das Respirationszentrum keinen dauernden Schaden genommen hat.

Die Wirkung der Kohlensäureeinatmung auf unnarkotisierte Kaninchen.
Gewicht 1,8 kg.

Nr.	Zeit	CO_2-Proz. in der Einatmungsluft	p_{H^+}	C_{H^+} in Proz. der Norm	Ventilation in Proz. der Norm	Alveolare Ventilation in Proz. der Norm
1	12h15′—12h35′	0	7,13	106	102	91
2	12 39 —12 48	5,5	7,08	119	265	364
3	12 53 — 1 01	0	—	—	94	74
4	1 10 — 1 27	25,7	6,66	315	258	373*)
5a	1h29′	—	—	—	318	430
5b	1 33	0	—	—	200	246
5c	1h43′— 1h51′	—	—	—	100	97
1h52′ beginnt die Einatmung von 49 Proz. CO_2. Die Periode endet 2h15′.						
6a	1h54′	—	—	—	298	427
6b	1 55	49	—	—	122	169
6c	2 00	—	6,54	415	102	138
7a	2 16	—	—	—	272	360
7b	2 21	—	—	—	200	217
7c	2 30	0	7,03	134	134	114
7d	3 05	—	—	—	98	100
8		75	5,6	3600	—	—

*) Man spürt eine beginnende Lähmung des Zentrums, da die Ventilation während der Perioden langsam abgenommen hat.

In Periode 7 (bei Einatmung von 75 Proz. CO_2) bekam das Tier sehr heftige Respiration, die nach ¾ Minuten einer recht langsamen, aber etwas krampfhaften Respiration Platz machte. Das Tier war nun tief narkotisiert, die p_H war etwa 5,6, d. h. daß die C_{H^+} 3600 Proz. höher war als normal. Beim Aufhören der CO_2-Einatmung erwachte das Tier fast augenblicklich aus der Narkose und die Ventilation stieg sogleich, um wiederum auf normale Werte zu fallen.

Die lähmende Wirkung sehr kohlensäurehaltiger Luft auf die Atmung erhellt aus folgendem Versuch.

Kaninchen, 2,3 kg, 1 g Urethan pro Kilogramm.

Proz. Einatmung atmosphärischer Luft		600 ccm pro Min.	Proz. Einatmung atmosphärischer Luft		600 ccm pro Min.
3h19′	Beginn der Einatmung von 20,4 Proz. CO_2		5h13	Aufhören der CO_2-Einatmung	
3 20		2510	5 15		1030
3 22		1300	5 16		1250
3 26		1130	5 17		1300
3 56	Aufhören der CO_2-Einatmung	1300	5 25		900
4 04		950	5 30	Einatmung v. 4 Proz. CO_2	
4 06	Einatmung von 30 Proz. CO_2	1700	5 32		1400
4 07		1300	5 33		1600
4 09		1000	5 35		1685
4 26		900			
5 12		690			

Die Lähmung des Respirationszentrums, die infolge der Einatmung der CO_2-reichen Luft eintritt, fällt, wie aus der letzten Periode dieses Versuchs hervorgeht, schnell fort.

Die genannten Versuche haben in mehrerer Hinsicht Bedeutung; sie demonstrieren aufs deutlichste die altbekannte, aber allgemein vergessene Tatsache, daß der Organismus sehr hohe Kohlensäureprozente (hier bis 75 Proz.) ertragen kann; ein so hohes Kohlensäureprozent wirkt narkotisch, was nach *Haldane*[1]) bereits *James Simpson* bekannt war, der, ehe er die betäubende Wirkung des Chloroforms kennenlernte, versucht hatte, die Einatmung von Kohlensäure als Betäubungsmittel zu verwenden. Die Versuche zeigen, daß die Ventilation ansteigt, bis die Einatmungsluft 5 bis 6 Proz. Kohlensäure enthält; die Ventilation ist alsdann bis auf etwa das Dreifache des Anfangswertes gestiegen und dürfte die größte Leistung darstellen, zu der das Tier unter den obwaltenden Bedingungen imstande ist.

Diese maximale Ventilation scheint sich einigermaßen unverändert zu erhalten, selbst wenn das Kohlensäureprozent in der Einatmungsluft auf 20 bis 25 Proz. erhöht wird, wenn das Kohlensäureprozent aber noch höher wird, so macht sich die lähmende Wirkung der Kohlensäure auf das Respirationszentrum geltend und die Ventilation ist alsdann bei etwa 50 bis 75 Proz. CO_2 im Vergleich mit der normalen nur unerheblich vermehrt.

Es ist wahrscheinlich, daß die „lähmende" Wirkung des Einatmens sehr kohlensäurereicher Luft nicht auf einer spezifischen Kohlensäurewirkung beruht, sondern von der nach einer solchen Kohlensäureeinatmung erfolgenden erheblichen Reaktionsverschiebung bedingt ist[2]). Es hat sich

[1]) Respiration.

[2]) Man hat eigentlich kein Recht, von einer lähmenden Wirkung auf das Atmungszentrum zu sprechen, da dasselbe ständig fungiert.

nämlich bei Versuchen mit Salzsäureinjektion (bei einem Kaninchen) gezeigt, daß das Respirationszentrum gegenüber einer Einatmung von 5,8 Proz. CO_2, nachdem die p_{H^+} des Blutes durch die voraufgegangene Salzsäureinjektion bis zu 6,78 verändert war, nicht reagierte.

Wie dem nun auch sei, so ist es klar, daß man hier ein Verhältnis vor sich hat, welches bei den genannten Versuchen, wo man die Wirkung der Kohlensäureeinatmung und der Säureinjektion auf das Respirationszentrum zu vergleichen wünscht, in Betracht zu ziehen ist. Denkt man sich nämlich, daß man durch die Säureinjektion eine plötzliche, erhebliche Veränderung in der Reaktion des Blutes hervorruft, so wäre es möglich, daß man die Reaktion des Blutes sozusagen mit einem Male bis auf solche Werte verschöbe, daß die Reaktionsverschiebung eine lähmende Wirkung auf das Respirationszentrum ausübte. Es wäre somit verfehlt, zu urteilen, die durch die Säureinjektion hervorgerufene große Reaktionsverschiebung bewirke nur eine geringe Ventilationsvermehrung, wohingegen die sich infolge der CO_2-Einatmung meldende geringe Reaktionsverschiebung eine sehr erhebliche Ventilationsvermehrung hervorrufe, weshalb die Kohlensäurewirkung folglich ganz anderer und erheblich kräftigerer Natur sein müsse als die anderer Säuren; denn auch bei der Kohlensäureeinatmung würde man — wenn das CO_2-Proz. nur genügend erhöht würde — eine erhebliche Reaktionsverschiebung und dennoch eine geringe Ventilationsvermehrung finden können.

Nach den beiden angeführten Versuchen zu urteilen, könnte man geneigt sein, die Schlußfolgerung zu ziehen, daß die lähmende Wirkung der sauren Reaktion auf das Respirationszentrum sich erst ernstlich geltend macht, wenn die p_{H^+} unter etwa 6,7 herabfällt. Schließlich mag der Hinweis darauf interessieren, daß man durch Einatmung sehr kohlensäurehaltiger Luft imstande ist, bisher unbekannte Reaktionsverschiebungen hervorzurufen, ein Umstand, der als Methode zur Aufklärung derartiger erheblicher Reaktionsverschiebungen auf eine Reihe von physiologischen Verhältnissen Bedeutung erlangen kann. Daß die Reaktion des Blutes durch Einatmung von 75 Proz. CO_2 eine hochgradige Verschiebung erleiden muß, ist einleuchtend.

Die Reaktion des Blutes läßt sich annähernd durch folgende Formel ausdrücken:

$$C_{H^+} = 10^{-6,1} \frac{H_2CO_3^-}{\text{gebundene Kohlensäure}} = 10^{-6,1} \frac{p/760 \,.\, 0{,}5 \,.\, 100}{HCO_3^-}\ ^{1}).$$

Für normale Werte der Kohlensäurespannung in den Alveolen (und dem arteriellen Blute) und der gebundenen Kohlensäure des Blutes erhält man:

$$10^{-6,1} \frac{2{,}7}{45} = 10^{-7,32}.$$

Ist die Kohlensäurespannung in den Alveolen aber = 80 Proz., so wird die freie Kohlensäure anstatt 2 bis 3 Vol.-Proz., nun 40 Vol.-Proz. werden, und wenn die Bicarbonatmenge als einigermaßen unverändert angenommen wird, muß die Reaktion etwa 10^{-6} betragen.

Wir können nun zu den Versuchen mit Säureeingaben übergehen.

---

[1]) Näheres hierüber s. *Warburg*, l. c.

Versuch 1.

Resorption von Salzsäure aus dem Duodenum.
Kaninchen, 2,3 kg, 2 g Urethan pro Kilogramm.

Nr.	Zeit		p_{H^+}	$C_{H^+} \cdot 10^{-8}$	Ventilation ccm	Alveol. Ventilation ccm	C_{H^+} in Proz. der Norm	Ventilation in Proz. der Norm	Alveolare Ventilation in Proz. der Norm
1	11h06'–11h20'	—	7,20	6,3	536	291	90	107	99
2	11 37 –11 45	Einatmen von 4,7 proz. CO_2	7,14	7,3	900	620	103	180	210
3	12 07 –12 22	11h55' werden 25 ccm n/3 HCl im Darmkanal gegeben. Die Blutprobe wird 12h10', also 15 Min. später, entnommen	6,90	12,6	550	293	180	110	100
4	2h30'	—	7,14	7,3	430	275	103	87	90
5	2h34'– 2h46'	Einatmen von 4,7 proz. CO_2	7,01	9,8	790	515	140	158	175
6	2 50 – 2 54	Aufhören der CO_2-Atmung	—	—	505	330	—	101	112

Als Resultat dieses Versuchs ist zu erwähnen, daß eine bestimmte, durch Resorption von Salzsäure aus dem Darmkanal hervorgerufene Reaktionsverschiebung keinen Anstieg in der Ventilation hervorruft. Der Unterschied zwischen der Salzsäure- und der Kohlensäurewirkung erhellt aus einem Vergleich mit der ersten CO_2-Einatmungsperiode in Versuch 1, wo die C_{H^+} nur 3 Proz. über den normalen Wert gestiegen ist (etwa 15 Proz. über den Anfangswert), und doch ist die alveolare Ventilation um 110 Proz. gestiegen. In der folgenden Periode mit Eingabe von n/3 HCl in den Darmkanal steigt die Wasserstoffionenkonzentration um 80 Proz., während die alveolare Ventilation überhaupt nicht steigt. Der Unterschied zeigt sich ebenfalls in der darauf folgenden Periode mit Kohlensäureeinatmung, die vorgenommen wurde, um zu untersuchen, ob die Reizbarkeit des Atmungszentrums noch unverändert sei; hier steigt die Wasserstoffionenkonzentration, mutmaßlich auf Grund der nach der Säureinjektion herabgesetzten Alkalireserve, immerhin um 40 Proz. und die alveolare Ventilation um 75 Proz. Wenn die von der Kohlensäure auf die Ventilation ausgeübte Wirkung aber wirklich in erster Linie auf eine spezifische Kohlensäurewirkung zurückzuführen ist, so kann man nicht erwarten, eine Proportionalität zwischen dem Anstieg in der C_{H^+} und dem Anstieg in alveolarer

Versuch 2.

Injektion von Essigsäure.
Kaninchen 2 kg, 1 g Urethan pro Kilogramm.

Nr.	Zeit		p_H	C_H Proz.	Ventilation Proz.	Alveolare Ventilation Proz.
1	11h55'–12h17'	Normal	7,18	95	72	63
2	12 29 –12 35	Einatmungsluft: 5,7 proz. CO_2	7,14	104	193	254
3	12 40 –12 45	—	—	—	77	72
4	12 58 – 1 10	Injektion von Essigsäure (n/3) in vena jugul. begonnen 12h47', beendet 1h04', erh. im ganz. 22 ccm	6,9	172	90	73
5	1 30 – 1 43	CO_2-Einatmung. 5,7 proz.	—	—	180	225

Ventilation zu finden, wohl aber zwischen alveolarer CO_2-Spannung und alveolarer Ventilation. Eine solche Proportionalität wird man im allgemeinen finden, obwohl der Versuch zeigt, daß das Respirationszentrum in Periode 5 nicht ganz so reizbar gewesen ist wie in Periode 2.

Ergebnis: Essigsäureinjektion gibt eine erhebliche p_{H^+}-Verschiebung, aber geringe Ventilationsvermehrung.

Kohlensäureeinatmung gibt sehr erhebliche Ventilationsvermehrung sowohl vor als auch nach der Periode mit Essigsäureinjektion, während die p_H-Verschiebung (die hier nur in der ersten Kohlensäureeinatmungsperiode kontrolliert wurde) sehr gering ist.

Entsprechende Verhältnisse weist der folgende Versuch auf, wo primäres Phosphat injiziert wurde.

Versuch 3.

Primäres Phosphat.

Kaninchen, 2 g Urethan pro Kilogramm.

Nr.	Zeit		p_H	C_H in Proz. der Norm	Ventilation in Proz. der Norm	Atemvol. in Proz. der Norm	Anzahl abs.	Alveolare Ventilation in Proz. der Norm	Austaus. CO_2	Alv. CO_2 in Proz. der Norm
1	12h59′–1h06′	Normal	—	—	108	111	52	120	—	—
2	1 08–1 21	Injekt. von 2,1 ccm 0,9 proz. NaCl	—	—	106	106	54	114	—	—
3	1 33–1 40	Einatmung von 5,0 proz. CO_2	7,27	61	344	176	104	457	6,34	120
4	2 25–2 44	Normal	7,29	59	109	109	53	120	—	—
5	2 49–2 54	Primäres Phosphat in Vene	7,21	89	119	111	57	131	—	—
	Blutprobe entnommen 2h58′ Laparotomie 3h38′									
	3h40′–3h45′	„Normal"	—	—	136	—	—	—	—	—
6	4 06–4 19	25 ccm n/2 primäres Na-Phosphat in Duodenum 3h45′–3h46′	7,04	131	135	98	73	137	—	—
7	4 20–4 35	Einatmung von 5,3 proz. CO_2	6,88	188	186	119	94	243	6,16	120

Sowohl die Injektion von primärem Phosphat — als auch die Aufnahme von solchem aus dem Darmkanal — ruft eine geringe Ventilationsvermehrung hervor, die jedoch bei weitem nicht von der gleichen Größe ist wie die nach der Einatmung von CO_2, was aus folgender Zusammenstellung, wo die Werte in Periode 4 gleich — 100 gesetzt sind, erhellt.

Nr.		Verminderung in der p_{H^+} Proz.	Steigerung in der C_{H^+} Proz.	Steigerung in der alveol. CO_2-Ventil. Proz.
3	Einatmung von 5,3 proz. CO_2	0,02	5	280
5	Injektion von primärem Phosphat	0,08	51	10
7	Resorption von primärem Phosphat	0,25	126	14
8	Einatmung von 5,3 proz. CO_2	0,41	220*)	100

*) Diese Erhöhung ist nicht von der CO_2-Einatmung allein bedingt, sondern 1. vor allem auf die nach Periode 5 erfolgte Verminderung der Alkalireserve und 2. auf die Resorption von primärem Phosphat aus Periode 7 zurückzuführen.

Periode 8 des Versuchs zeigt, daß das Respirationszentrum noch nach der Aufnahme von Phosphat gegenüber der CO_2-Einatmung reizbar ist (obwohl etwas weniger als in Periode 3), was hauptsächlich dem Umstand zuzuschreiben ist, daß die Reizbarkeit in ersterem Falle abnorm groß ist, trotzdem die p_{H^+} sich bei diesem Experiment infolge der fortgesetzten Resorption von primärem Phosphat um 0,4 (bis 6,88) von der Norm entfernt hat. Bei der Bewertung der Reizbarkeit des Zentrums in Periode 8 glauben wir deshalb das Hauptgewicht darauf legen zu müssen, daß die CO_2-Spannung in den Alveolen, ebenso wie in Periode 3, um 20 Proz. erhöht ist, wohingegen die Reaktionsverschiebung von geringerer Bedeutung ist.

Die zweite Erklärungsmöglichkeit, daß das Irritament, demgegenüber das Zentrum reagiert, wirklich eine Reaktionsverschiebung ist und daß die geringe Wirkung des primären Phosphats (s. Periode 5 und 7) darauf beruht, daß das Zentrum gegen das Irritament weniger reizbar geworden ist (eine Auffassung, die zum Teil von Periode 8 gestützt wird, denn dieselbe zeigt tatsächlich, daß die Reizbarkeit des Zentrums geringer ist als zu Beginn des Versuchs), kann jedoch nicht richtig sein; denn trotz der verminderten Reizbarkeit erhöht die Kohlensäureeinatmung die alveolare Ventilation um 100 Proz., und eine solche Erhöhung findet ihre Erklärung nicht in dem Anstieg der in diesem Versuch als Folge der gleichzeitigen Aufnahme von primärem Phosphat und Kohlensäure gefundenen Wasserstoffionenkonzentration. Wenn die Ventilationsvermehrung in Periode 8 von der Reaktionsverschiebung und nicht von einer spezifischen Kohlensäurewirkung herrührte, so wäre nach 8 (und 5) eine Ventilationsvermehrung von höchstens 23 Proz. zu erwarten, während die Ventilation tatsächlich um 100 Proz. gestiegen ist.

Der hier angeführte Versuch entspricht vollkommen den von *Fleisch* ausgeführten, auf deren Basis *Fleisch* aber die Schlußfolgerung zieht, daß die Ventilation nicht von der Kohlensäurespannung reguliert wird, sondern daß eben die Reaktion des Blutes (bzw. des Atemzentrums) die Regulierung der Ventilation besorgt.

Fleisch findet somit (Tabelle 1):

p_H-Verschiebung	Steigerung in der C_{H^+} Proz.	Steigerung in der Ventilation Proz.
0,14	38	34
0,10	26	34
0,05	13	24
0,07	19	47

Gleichzeitig findet er natürlich einen Fall in der alveolaren Kohlensäurespannung; jedoch fehlt es *Fleisch* an Kontrollversuchen mit Kohlensäureeinatmung und nach allem dem, was vorliegt (die Versuche sind an leicht mit Urethan narkotisierten Kaninchen ausgeführt worden), muß geltend gemacht werden, daß die genannten Reaktionsverschiebungen, falls sie durch Einatmen von Kohlensäure hervorgerufen wären, Ventilationsvermehrungen von 100 bis mehreren 100 Proz. und nicht, wie in *Fleischs* Versuchen, von 25 bis 50 Proz. verursacht hätten. Sogar *Fleischs* Versuche scheinen somit darauf zu deuten, daß die Wirkung einer allgemeinen Reaktionsverschiebung auf die Ventilation sich, was die quantitativen Verhältnisse anbelangt, mit der Wirkung der Kohlensäure auf das Respirationszentrum nicht identifizieren läßt.

Übrigens leiden *Fleischs* Versuche unter einer gewissen Unsicherheit, da die angeführten Werte für die Ventilation in den Ruheversuchen, welche die Grundlage für die Berechnung der nach Injektion von primärem Phosphat erfolgenden Erhöhung der Ventilation bilden, in hohem Grade variieren, trotzdem die Versuche unter gleichartigen Verhältnissen (Beispiel 2 und 3) ausgeführt sind, so daß die nach der Phosphatinjektion beobachtete Ventilationserhöhung in Beispiel 3 dem Normalwert in Beispiel 2 sehr nahe kommt.

Überzeugender ist folgender, an einem unnarkotisierten Kaninchen von uns ausgeführter Versuch.

Versuch 4.

Injektion von NaH_2PO_4 in vena jugul.
Unnarkotisiertes Kaninchen, 2,2 kg.

Nr.	Zeit		p_H	C_H Proz.	Ventilation Proz.	Alveolare Ventilation Proz.	Alveol. CO_2
1	10h20′–10h30′	Normal	7,06	124	91	94	101
2	10 32–10 39	Einatmung von 5,8 proz. CO_2	7,01	140	264	347	169
Injektion von n/2 NaH_2PO_4 um 11h03′: kurz nach Beginn der Injektion betrug die Ventilation 200 Proz., nahm aber danach ab. Aufhören der Injektion 11h10′.							
3	11h12′	—	6,80	230	116	118	96
4	11h16′–11h24′	—	6,91	172	100	107	94
5	11 29–11 46	Einatmung von 5,84 proz. CO_2	6,86	200	260	340	167

In der nämlichen Weise sind Versuche mit Injektion von Milchsäure angestellt worden; derartige Versuche können vielleicht größeres Interesse beanspruchen als Versuche mit anderen Säuren, und zwar auf Grund der in den Zellen stattfindenden Bildung von Milchsäure und deren Übertritt ins Blut bei kräftiger Muskelarbeit und bei Sauerstoffmangel.

Man darf jedoch nicht vergessen, daß die Milchsäure ebensowenig wie die Essigsäure als solche im Blute vorkommt. Da die Reaktion des Blutes etwa 10^{-7} und die Dissoziationskonstante der Milchsäure etwa 10^{-4} beträgt, so wird die Milchsäure sogleich neutralisiert und als Lactation im Blute gefunden.

Wenn man dem Säurerestion — hier dem Lactat — eine besondere Wirkung auf das Respirationszentrum nicht zuschreiben will (diesbezügliche Versuche werden späterhin besprochen werden), so muß man sich klar machen, daß es für das Resultat belanglos ist, welche Säure man in das Blut injiziert, wenn die Dissoziationskonstante derselben nur größer ist als 10^{-5}; jedenfalls wird die Säureinjektion, die Reaktion des Blutes, durch Herabsetzung der Bicarbonatmenge und vorübergehende Erhöhung der H_2CO_3-Menge verändert, wenn dieselbe nicht — was allerdings in der Regel der Fall ist — durch die vermehrte Ventilation kompensiert oder überkompensiert wird. Das Einatmen von CO_2 hingegen verändert die Reaktion des Blutes durch eine Erhöhung des Wertes des Zählers (der freien Kohlensäure) in der Gleichung $C_{H^+} = k \cdot \frac{H_2CO_3}{HCO_3}$.

Da es sich erwiesen hat, daß das Respirationszentrum, auch wenn dasselbe möglicherweise auf Reaktionsverschiebungen reagiert, jedenfalls

gegenüber einer Erhöhung der Menge der freien Kohlensäure erheblich erregbarer ist als gegenüber einer Verminderung der Bicarbonatkonzentration, so ist das — wenn die Erklärung dafür nicht in sekundären Verhältnissen zu suchen ist — als Beweis zu erachten, daß das Respirationszentrum gegenüber der freien, nicht dissoziierten Kohlensäure (H_2CO_3) mit einer speziellen Reizbarkeit ausgestattet ist.

Aus Rücksicht auf die Wichtigkeit und die Schwierigkeit der Entscheidung dieser Frage seien hier ein paar Versuche über die Wirkung der Milchsäureinjektion angeführt.

Versuch 5.

Milchsäureinjektion in vena jugul.

Kaninchen, 2,6 kg.

Nr.	Zeit		p_H	C_H Proz.	Ventilation Proz.	Alveolare Ventilation Proz.
1	11h46′–12h14′	Normal	7,24	83	98	72
2	12 17–12 24	Einatmung von 4,5proz. CO_2	7,21	89	208	235
3	12 38–12 54	Injektion von 35 ccmm n/3 Milchsäure	7,06	124	98	73
4	1 11– 1 16	Einatmung von 4,5proz. CO_2	—	—	188	148
5	1 22– 2 08	Injektion von 50 ccm 10proz. $NaHCO_3$ ins Duodenum	7,34	66	89	67

Versuch 6.

Milchsäureinjektion in vena jugul.

Kaninchen, 4 kg. 1,5 g Urethan pro Kilogramm.

Kanüle in Carotis und Vena jugul. Trachalkanüle.

Nr.	Zeit		p_{H^+}	C_{H^+} in Proz. der Norm	Ventilation	Volumen	Absolute Anzahl	Zusammensetzung der Ausatmungsluft
1	12h35′–12h50′	Injektion von 2,7 ccm 0,9proz. NaCl pro Min. (40 ccm)	7,21	89	108	70	—	2,3
2	1 03– 1 14	Einatmung von 4,3proz. CO_2	7,16	98	194	165	72	5,3
3	1 17– 1 22	Normal	—	—	100*)	100	61	—
4	1 26– 1 48	Injektion von 50 ccm etwa n/2 Milchsäure	7,09	118	134	106	68	—
5	2 07– 2 25	Einatmung von 4,3proz. CO_2	7,13	106	188	140	92	5,2
6	2 48– 3 03	Injektion von 20 ccm 1,5proz. $CaCl_2$	—	—	73	55	95	—

*) Da die Größe dieses Versuchstieres in so hohem Grade von der der anderen Versuchstiere abweicht, ist hier nicht zur Norm korrigiert, sondern der Wert 1130 ccm gleich 100 gesetzt.

Durch diese beiden Versuche wird der Unterschied zwischen der Milchsäurewirkung und der Kohlensäurewirkung deutlich erkennbar.

Bei Injektion von Milchsäure erfolgt eine deutliche Reaktionsverschiebung und geringe — in dem einen Versuch überhaupt keine — Ventilationserhöhung, während bei Kohlensäureeinatmung eine geringe Reaktionsverschiebung nach der sauren Seite (von dem Anfangswert in dem vorhergehenden Versuch an gerechnet) und dennoch eine sehr erhebliche Ventilationsvermehrung zu erkennen ist. Der Unterschied wird allerdings nicht immer so deutlich erkennbar wie hier, was aus den nachfolgenden Versuchen hervorgeht.

Versuch 7.

Sauerstoffmangel und Milchsäure. Kaninchen, 1,8 kg. Keine Narkose.

Nr.	Zeit		p_H	C_H Proz.	Ventilation Proz.	Alveolare Ventilation Proz.
1	10h42′–11h04′	Normal	7,23	84	117	117
2	11 24–11 30 11h40′ wird 1 g Urethan pro kg gegeben	Einatmung sauerstoffarmer Luft. Ausatmungsluft = 10,1 Proz. O_2	7,30	71	412	570
3	11h48′–12h55′	Einatmung sauerstoffarmer Luft. 9,5 Proz. O_2	7,30	71	234	308
4	1 08 – 1 13	Normal	—	—	116	137
5	1 21 – 1 45	Injektion von 45 ccm etwa n/2 Milchsäure	7,05	127	193	260
6	1 47 – 3 55	Probe entnommen 3h30′	7,19	93	190	260

Obiger Versuch zeigt die überaus deutlich ausgesprochene Wirkung des Sauerstoffmangels auf die Ventilation. Diese wird stark vermehrt, die Kohlensäure wird ausgespült und die Reaktion des Blutes nach der basischen Seite hin verschoben.

Die Milchsäureinjektion scheint die Ventilation auch zu vermehren, in dem Falle wird die Reaktion des Blutes aber natürlich nach der sauren Seite hin verschoben.

Periode 6 — etwa 2 Stunden nach Einstellung der Milchsäureinjektion — zeigt, daß die während der Milchsäureinjektion gefundene Vermehrung der Ventilation kaum als einfache Folge der Reaktionsverschiebung zu erachten ist, da diese nun kompensiert ist; die Vermehrung der Ventilation ist aber ständig vorhanden. Dies ließe sich zum Teil aus dem im Verlauf der Versuche meist gefundenen Anstieg in der Ventilation erklären, die bewirkt, daß die Ventilation, auch wenn man während der Versuche zu normalen Bedingungen zurückkehrt, in den wenigsten Fällen ihre Anfangswerte ganz wieder erreicht; hier hält sich die Verschiebung, was die Ventilation anbelangt, 62 Proz. über den Anfangswerten, während die alveolare Ventilation noch erheblich vermehrt ist.

Die spezifische dynamische Wirkung der Milchsäure — sowie die Wirkung, welche die Injektion von Salzlösungen auf die Ventilation haben kann — muß jedoch auch in Betracht gezogen werden.

Versuch 8.

Sauerstoffmangel und Milchsäure. Kaninchen, 2 kg. Keine Narkose.

Nr.	Zeit		p_{H^+}	C_{H^+} Proz.	Ventilation Proz.	Alveolare Ventilation Proz.
1	12h08′–12h15′	Normale Verhältnisse	7,22	86	104	104
2	12 16–12 42	Einatmen sauerstoffarmer Luft. Die Zusammensetzung der Ausatmungsluft 10,8 proz.	7,32	69	181	230
3	12 43 – 1 05	Einatmen atmosphärischer Luft	7,14	104	132	157
4	1 13 – 1 27	Einatmen sauerstoffarmer Luft. Die Zusammensetzung der Ausatmungsluft 10,8 proz.	7,34	66	210	285
5	1 28 – 2 09	Einatmen atmosphärischer Luft	—	—	145	182
6	2 13 – 2 35	Injektion von 35 ccm etwa n/4 Milchsäure	7,05	127	140	200
7	2 46 – 2 57	Einatmung von 6 proz. CO_2	—	—	287	433

Das Einatmen sauerstoffarmer Luft gibt hier ebenso wie in den ersten Versuchen eine sehr erhebliche Ventilationserhöhung und Verschiebung der Reaktion des Blutes nach der basischen Seite.

Die Milchsäureinjektion scheint hier eine erhebliche Ventilationsvermehrung (und zwar speziell der alveolaren Ventilation) hervorgerufen zu haben; diese Vermehrung rührt aber schwerlich in erster Linie von der durch die Milchsäureinjektion verursachten Reaktionsverschiebung her; betrachtet man nämlich die Periode auf Basis der unmittelbar vorhergegangenen Periode (5), wo sich offenbar eine Nachwirkung des Sauerstoffmangels geltend macht, so ist die Steigerung in der Periode mit der Milchsäureinjektion verschwindend klein.

Versuch 9a.

Injektion von Milchsäure und Lactat.

Kaninchen, 2,5 kg.

Nr.	Zeit		Ventilation Proz.	Alveolare Ventilation Proz.
1	3h10′–3h24′	Normal	89	108
2	3 25 –3 38	20 ccm n/4 Lactat	112	142
3	3 43 –4 50	24 ccm n/4 Milchsäure	164	197

Versuch 9b.

Kaninchen, 2,1 kg. Keine Narkose.

Nr.	Zeit		p_H	C_H Proz.	Ventilation Proz.	Alveolare Ventilation Proz.
1	10h34′–10h43′	Normal	7,24	83	98	91
2	10 45 –11 01	Einatmung von 5,8 proz. CO_2	7,20	92	228	320
3	11 23 –11 33	Injektion von 25 ccm n/4 Lactat	7,20	92	177	220
4	12 37 –12 48	Normal	—	—	124	145

Versuch 9c.

Injektion von Natriumlactat.

Kaninchen, 1,8 kg.

Nr.	Zeit		p_H	C_H Proz.	Ventilation Proz.	Alveolare Ventilation Proz.	Alv. CO_2-Spannung Proz.
1	11h40′–12h01′	Normal	7,10	113	125	142	100
2	12 48 –12 59	Injektion von 35 ccm n/4 Natriumlactat	7,12	108	173	199	96

Da die vermehrte Ventilation (etwa 38 Proz.), die die Folge der Injektion von Natriumlactat ist, nicht von einem größeren Falle in der alveolaren Kohlensäurespannung (die normale CO_2 = etwa 39 mm) begleitet ist, so ist diese Ventilationserhöhung als Folge einer durch Natriumlactat hervorgerufenen Stoffwechselsteigerung zu betrachten, gleichviel ob dieselbe als von dem verspürten Muskelzittern oder von einer mehr spezifisch dynamischen Wirkung des Natriumlactats bedingt aufzufassen ist.

Übersicht über die Milchsäure- und die Lactatwirkung.

Nr.	p_H	C_H Proz.	Milchsäurewirkung Ventilation Proz.	Lactatwirkung Ventilation Proz.
1	7,06	124	98	—
2	7,09	118	134	—
3	7,05	127	193	173
4	7,05	127	140	92
5	—	—	164	112
Durchschnittl. Steigerung		24	46	46

In fünf Versuchen mit einigermaßen gleichen Mengen Milchsäure findet sich bei einer Vermehrung der C_{H^+} von 24 Proz. eine Ventilationsvermehrung von 46 Proz.; vergleichsweise erfolgt nach Injektion entsprechender Mengen Lactat eine entsprechende Ventilationsvermehrung.

Auf Grund der wenigen (drei sehr wenig übereinstimmenden) Versuche mit Lactatinjektion ist dieser Übereinstimmung allerdings keine Bedeutung beizumessen. Die Versuche mit Milchsäure und Lactat sind in Anbetracht der recht erheblichen Variationen zu gering an Zahl, um weitgehende Schlußfolgerungen zu gestatten.

Diese Versuche zeigen aber wiederum eine schwächere Wirkung der Milchsäure als der Kohlensäure.

Es muß doch bemerkt werden, daß sowohl die Milchsäure als auch das Lactat einen stärkeren steigernden Einfluß auf die alveolare als auf die totale Ventilation ausübt.

Zum Vergleich der Wirkung von Milchsäureinjektionen und CO_2-Einatmung auf die Ventilation sei hier noch angeführt, daß bei CO_2-Einatmung eine Vermehrung der C_{H^+} von durchschnittlich 9 Proz., eine Ventilationsvermehrung von 146 Proz. erfolgt[1]), und zwar im Gegensatz zu dem Verhältnis bei der Milchsäureinjektion, wo eine Vermehrung der C_{H^+} von 24 Proz. nur eine Ventilationserhöhung von 46 Proz. herbeiführt (eine Wirkung, die man bei Injektion einer entsprechenden Menge Lactat ohne Reaktionsverschiebung wiederfindet).

Während zu erwarten war, daß eine Reaktionsverschiebung nach der sauren Seite eine vermehrte Ventilation verursachen würde, wenn das Atmungszentrum von der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes reguliert wird, so war umgekehrt zu erwarten, daß eine Reaktionsverschiebung nach der basischen Seite einen Respirationsstillstand oder zumindest eine langsamere Respiration herbeiführen und daß die alveolare Kohlensäurespannung steigen müsse; das ist aber nicht der Fall.

In einem früheren Versuch[2]), wo Bicarbonat in den Darmkanal eingespritzt wurde, ist keine nennenswerte Herabsetzung der Ventilation im Vergleich mit dem Anfangswert zu sehen; in dem nachstehenden Versuch, wo Bicarbonat in die Blutbahn eingeführt ist, ist während der Injektion selbst eine stark vermehrte Ventilation erkennbar.

---

[1]) Zum Vergleich sei auf *Arborelius* und *Liljestrands* überaus interessante Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen der p_H-Verschiebung im Blute und der Ventilationsvermehrung bei Muskelarbeit hingewiesen. Skand. Arch. f. Physiol.

[2]) S. Versuch 5, S. 14, Periode 5.

Versuch 10.

Die Wirkung der Bicarbonatinjektion.
Kaninchen, 2,1 kg. Keine Narkose.

Nr.	Zeit		p_H	C_H in Proz. der Norm	Ventilation Proz.	Alveolare Ventilation Proz.
1	10h25′–10h30′	Normal	7,16	99	103	123
2	10 35–10 45	Einatmen von 5,6 proz. CO_2	7,08	118	290	450
3	10 51–11 14	Injektion von 40 ccm etwa 10 proz. $NaHCO_3$	7,57	39	172	240
4	11 36–11 48	Einatmen von 5,6 proz. CO_2	7,50	46	240	320
5	12h00′	Einatmen von atmosph. Luft	7,56	40	106	120
6	1h10′– 1h22′	Einatmen von 9,2 proz. CO_2	7,18	94	232	306
7	3 40– 4 00	Einatmen von atmosph. Luft	7,53	43	114	125

Man sieht trotz der basischen Reaktion als Folge der Bicarbonatinjektion eine erhebliche Ventilationserhöhung. Mutmaßlich kann die durch Injektion von Bicarbonat vermehrte Ventilation als Folge der Flüssigkeitsinjektion als solche aufgefaßt werden, da — wie bereits früher erwähnt — die Injektion von Salzlösung hin und wieder eine recht deutliche Ventilationsvermehrung hervorruft. Es ist von überragender Bedeutung, daß die Kohlensäureeinatmung in Periode 4 eine sehr starke Ventilationsvermehrung verursacht, trotzdem die Reaktion des Blutes sowohl vor als auch während der CO_2-Einatmung nach der basischen Seite verschoben ist.

In Periode 6 ist die alveolare Ventilation auf das Dreifache gestiegen, trotzdem die Reaktion während des Versuchs im Verhältnis zu den Normalwerten etwas basisch ist; daß die Kohlensäureeinatmung als solche eben die Ventilationsvermehrung verursacht, erhellt aus der vorhergehenden und der nachfolgenden Periode, wo die Ventilation normal ist; die irritierende Wirkung, die die Injektion selbst mutmaßlich auf das Respirationszentrum (Periode 3) hat, ist nämlich in 5 und 7 nicht zugegen, und man sieht hier eine normale Ventilation, trotzdem die Wasserstoffionenkonzentration auf die Hälfte der normalen herabgesunken ist.

Es ist außerdem bemerkenswert, daß diese Reaktionsverschiebung nicht von kurzer Dauer gewesen ist, sondern sich von 11 Uhr 34 Minuten, wo die letzte Bicarbonatinjektion beendigt war, bis 4 Uhr gehalten hat. Die Reaktion des Blutes betrug da, nachdem 69 ccm der starken Bicarbonatlösung injiziert worden waren, 7,59. Dieser Umstand ist bedeutungsvoll, da man damit rechnen muß, daß Blut und Gewebe wenigstens in einem solchen Versuch miteinander ins Gleichgewicht gekommen sein müssen.

Außer den bisher erwähnten Versuchen mit Tieren sind einzelne Versuche an Menschen ausgeführt worden. Das Hauptergebnis stimmt mit dem der Tierversuche überein, es ist aber nicht zu verkennen, daß die Versuche auf natürlichere Weise ausgeführt worden sind und daher ein besonderes Interesse verdienen.

Die Versuche sind nämlich an nicht narkotisierten Individuen ausgeführt worden, und die hervorgerufene Säurevergiftung nimmt bei der von *J. B. S. Haldane, R. Hill* und *Joh. Luck*[1]) untersuchten Calciumchloridacidosis einen ebenmäßigeren und langsameren Verlauf.

[1]) Journ. of Physiol. 57, 301, 1923.

Wird Calciumchlorid eingenommen, so bildet ein Teil des Bauchspeichels, des Darmsaftes sowie des Bicarbonats der Galle mit Ca^{++} ein unlösliches Calciumcarbonat, wodurch dem Organismus ein Teil seiner Bicarbonatmenge entzogen wird.

Nach *Haldane*, *Hill* und *Luck* führt diese Behandlung eine erhebliche Vermehrung der Ventilation herbei, was auch zu erwarten war, wenn die Reaktion des Blutes konstant erhalten werden sollte.

Wie aus den beiden nachstehenden Versuchen ersichtlich ist, haben wir nach Eingabe von $CaCl_2$ keine merkbare Ventilationsvermehrung nachweisen können, dahingegen wird die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes — in den ausgesprochenen Fällen — um 45 Proz. vermehrt gefunden (p_{H^+} ist von 7,28 auf 7,14 verschoben); zieht man nun in Betracht, daß eine durch Einatmung von 3 bis 4 Proz. Kohlensäure in der C_{H^+} des Blutes verursachte Erhöhung von 5 bis 6 Proz. eine Ventilationserhöhung von 50 bis 100 Proz. herbeiführt, so sieht man wiederum, daß die Lehre von der Wirkung der Vermehrung der freien Kohlensäuremenge auf das Respirationszentrum, die einfach einer Verschiebung der Reaktion des Blutes zuzuschreiben wäre, abzulehnen ist. Über die Ursache des Unterschiedes, der zwischen *Haldanes*, *Hill* und *Lucks* und unseren eigenen Versuchen besteht, haben wir uns noch keine Ansicht bilden können.

Säurevergiftung beim Menschen. I.
(*R. E.*, 62,5 kg.)

Nr.	Zeit 20. III. 1925	p_{H^+}	C_{H^+} Proz.	Ventilation in Litern pro Minute	Ventilation Proz.	Anzahl	Alveolare Ventilation in Litern pro Minute	Alveol. Ventilation Proz.	
1	1h55′–2h08′	7,34	100	8,9	100	17	5,4	100	12h00′–12h30′ Frühstück *) + 20 g $CaCl_2$
2	2 23–3 05	7,36	96	8,0	90	17	4,7	88	—
3	3 30–4 30	7,32	104	8,2	93	16	5	93	10 g $CaCl_2$
4	6 15–6 30	7,19	141	9,0	102	16	5,8	107	Der von 5h15′–6h00′ gebild. Harn hatte eine p_H von ca. 4,5

Untersuchung über die Reizbarkeit des Zentrums gegenüber dem Einatmen von Kohlensäure (*R. E.*).

	30. III. 1925								
5	12h00′ 12h14′	7,32	100	8,1	100	18	4,5	100	—
6	2 01 – 2 15	7,29	106	12	148	17	8,6	101	Einatmen v. 3,3 proz. CO_2
7	2 24 – 2 29	7,20	133	26,4	326	22,2	21,9	486	Einatmen v. 6,4 proz. CO_2

*) Die Werte in diesem Experiment dürften schwerlich ganz normale Verhältnisse darstellen. Die Ventilation ist auf Grund des vorher eingenommenen Frühstücks sicher etwas über den Ruhewerten und die Reaktion auf Grund der Magensaftsekretion möglicherweise um ein Geringes nach der basischen Seite hin verschoben.

Die Reizbarkeit des Atmungszentrums gegenüber Veränderungen in dem Kohlensäuregehalt des Blutes läßt sich auch auf andere Weise dartun; Hyperventilation oder Respirationsstillstand läßt sich bekanntlich nur während einer ganz kurzen Zeitspanne durchführen, und daran sollen nach der üblichen Erklärung die veränderten Reaktionsverhältnisse im Blute schuld sein. Es zeigt sich indessen, daß die durch das künstlich forcierte Atmen oder den künstlichen Respirationsstillstand hervorgerufenen Re-

Säurevergiftung beim Menschen. II.
(R. E., 62,5 kg.) (Nüchtern seit dem Abend vorher.)

Nr.	Zeit 18. VI. 1925	p_{H^+}	C_{H^+} Proz.	Ventilation in Litern pro Minute	Ventilation Proz.	Anzahl	Alveolare Ventilation in Litern pro Minute	Alveol. Ventilation Proz.	
1	11h30′–12h00′	7,28	100	8	100	17	4,6	100	Die Blutprobe wurde aus der Hand entnommen. Die Hand in Wasser von 45°
2	12 35–12 46	7,26	105	15,4	192	18	11,8	256	Einatmen v. 3,2 proz. CO_2
3	5 23 – 5 35	7,25	110	7,6	95	18	4,0	87	Zwischen 1—2h werden 30 g $CaCl_2$ eingenommen
4	19. VI. 4h18′– 4h31′	7,20	123	8,2	102	19	4,3	94	19. VI. 7h: 10 g $CaCl_2$, 19 g vor dem 12h. Frühstück. 7h00′ 9 g $CaCl_2$
5	20. VI. 2h31′– 2h50′	7,16	135	9*)	112	19	5,1	111	20. VI.: 11 g vor 10h. 11h45′ Frühstück
	21. VI.	—	—	—	—	—	—	—	21. VI. 30 g $CaCl_2$
6	22. VI. 11h05′–11h19′	7,14	145	7,6	95	17	4,2	91	22. VI. 10 g $CaCl_2$ zum Morgentee
7	11 22–11 29	—	—	19	238	18	14,5	315	Einatmen von 4 proz. $CaCO_3$

*) Es wurden kurz nacheinander Blutproben sowohl aus dem Ohr (Kapillarblut) als auch aus Venen der Hand unter Warmwasserhyperämie entnommen. In beiden Proben wurde 7,25 für die p_H festgestellt. — Während der Probenahme stieg die Ventilation auf 10,4 Liter pro Minute. Die Reaktion des Blutes ist daher innerhalb der betreffenden Periode mutmaßlich etwas saurer gewesen als sie infolge der Hyperventilation gefunden wird.

aktionsverschiebungen im Vergleich mit denen, die durch Säure- oder Baseneingabe herbeigeführt werden können, recht unerheblich sind.

An Versuchen dieser Art haben wir nur wenige ausgeführt; dieselben sind in untenstehender Tabelle zusammengestellt.

Das Blut ist dem Ohr entnommen; es wurde Wert darauf gelegt, das Blut in den betreffenden Versuchsperioden so spät als möglich zu entnehmen, weshalb wir uns auch mit der kleinstmöglichen Menge — etwa 0,5 ccm im ganzen — begnügt haben.

Kapillarblut aus dem Ohre (Menschen).

Nr.	Maximale Hyperventilation		Normale Verhältnisse		Maximaler Respirationsstillstand	
	p_{H^+}	C_{H^+} Proz.	p_{H^+}	C_{H^+}	p_{H^+}	C_H in Proz. der Norm
1	—	—	7,33	96	—	—
2	7,46	72	7,31	100	—	—
3	7,56	57	7,30	102	7,21	126
4	7,50	65	7,29	104	7,24	118
Durchschnitt:	7,50	65	7,31	100	7,22	122

Aus den wenigen Versuchen scheint hervorzugehen, daß es schwierig ist, die Respiration fortzusetzen, wenn man die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes durch die Kohlensäureausspülung um 35 Proz. herabgesetzt hat;

im Gegensatz hierzu findet man, daß die Respiration fast unverändert bleibt, wenn die Reaktion des Blutes bei einem Kaninchen durch Injektion von $NaHCO_3$ entsprechend (18. Mai, Periode 5) vermindert wird; dementsprechend steht der unwiderstehliche Drang zu atmen, der sich meldet, wenn die Reaktion durch Kohlensäureanhäufung um etwa 25 Proz. gestiegen ist, in gar keinem Einklang damit, daß eine durch $CaCl_2$ per os hervorgerufene Steigerung der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes um 45 Proz. keine Wirkung auf die Respiration ausübt, vorausgesetzt, daß die Reaktion der eigentliche Regulator der Atmung ist.

Von verschiedenen Verfassern ist behauptet worden, daß die alveolare Kohlensäurespannung einige Zeit nach der Speisenaufnahme steige; dies Verhalten ist namentlich von *Dodds*[1]), der auf den Zusammenhang zwischen der Erhöhung der CO_2 und der Salzsäuresekretion hinweist, studiert worden. Durch die Absonderung der Salzsäure vom Organismus wird die Reaktion des Blutes nach der basischen Seite verschoben. Wenn die Reaktion des Blutes nun die Ventilation bestimmt, so muß diese vermindert werden, bis man infolge der Kohlensäureanhäufung eine einigermaßen normale Ventilation erhält. Ob diese Erklärung korrekt ist, können wir nicht sagen, wir haben jedoch die Reaktion des Blutes während der Salzsäuresekretion gerade mit diesem Verhalten vor Augen bestimmt, und zwar namentlich, weil von anderer Seite geltend gemacht worden ist, daß die Reaktion des Blutes während der Salzsäuresekretion des Magens außerordentlich stark verschoben wird[2]).

Um zu untersuchen, welche Reaktionsschwankungen während der Salzsäuresekretion eintreten können, haben wir die Reaktion des Blutes bei einem Hunde mit Magenfistel sowohl vor als auch nach der Speisenaufnahme festgestellt, da man hier, wo die gebildete Säure aus dem Organismus entleert wird, erwarten mußte, die größten Verschiebungen in der Reaktion des Blutes zu finden.

Zum Vergleich haben wir die Normalwerte für die p_H beim Hunde bestimmt:

p_H	$C_{H^+} 10^{-8}$	C_H in Proz.
7,32	4,8	—
7,32	4,8	—
7,32	4,8	—
7,35	4,5	—
Durchschnitt:	4,7	100

Der Hund erhält im Laufe einer Stunde (von etwa 10 bis 11 Uhr) Fleisch in kleinen Brocken (hatte morgens Brot bekommen).

Während der Ventrikelsekretion (wo in einem Versuche 117 ccm während in einem anderen Versuche 260 ccm n/10 Säure entsprechende Säuremenge entleert wurde) wurden folgende Werte gefunden:

[1]) *Dodds*, Journ. of Physiol. **54**, 342, 1921.

[2]) *O. Kestner* und *R. Plaut*, Die erfrischende Wirkung des Essens, Pflügers Archiv **205**, 43, 1924.

p_H	$C_{H^+} 10^{-8}$	C_H in Proz.
7,47	3,4	72
7,41	3,9	83

Diese Schwankungen in der Reaktion des Blutes sind allerdings erheblich geringer als die von *Kestner* und *Plaut* gefundenen; sie zeigen aber andererseits, daß während der hier erwähnten Versuche nachweisbare Verschiebungen in der Reaktion des Blutes eintreten, Verschiebungen, die nicht kompensiert werden, wenigstens nicht vollständig durch eine verminderte Ventilation; wenn das Tier seine alveolare Ventilation um etwa 20 Proz. des während des Versuchs vorhandenen Wertes herabgesetzt hätte, so wäre die Reaktion des Blutes nahezu konstant zu erhalten gewesen.

So große Schwankungen in der Reaktion des Blutes während der Verdauung werden beim Hunde unter normalen Verhältnissen, wo der saure Mageninhalt nach und nach in den Darm übertritt und dort von dem sezernierten Bicarbonat neutralisiert wird, nicht gefunden.

Bei einem Hunde ohne Magenfistel betrug eine Stunde nach dem Verzehren von 500 g Fleisch die p_H des Blutes 7,36 ($C_{H^+} = 4{,}4 \cdot 10^{-8}$) = 94 Proz. des Durchschnittswertes; die Verschiebung in der Reaktion des Blutes ist somit unter diesen Verhältnissen kaum nachweisbar.

Diskussion.

Erörterung der Versuchsergebnisse.

Die angestellten Versuche sind zu dem Zwecke ausgeführt worden, zu untersuchen, ob — wie nach *Hasselbalch* und *Wintersteins* Theorie zu erwarten war — eine bestimmte Relation zwischen der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes und der alveolaren Ventilation besteht.

Die gefundenen Resultate zeigen, daß ein einfaches und konstantes Verhältnis zwischen diesen beiden Funktionen nicht existiert.

Obwohl unsere Versuche in mancher Hinsicht mit einer Reihe von Problemen, die man bisher durch die *Hasselbalch-Winterstein*sche Reaktionstheorie für die Regulation der Atmung (Hyperventilation und niedrige CO_2-Spannung in Blut und Alveolen während der diabetischen Ketosis, hohe Kohlensäurespannung in der „alkalischen Phase" während der Salzsäuresekretion des Magens usw.) als gelöst betrachtete, im Widerstreit stehen, so muß andererseits betont werden, daß unsere Versuche von *Hooker*, *Wilson* und *Connet*, *Scott*, *Collip* sowie *Dale*, *Evans* und *Mellanby* ausgeführten Untersuchungen bestätigen, welche — gleichwie die unserigen — sämtlich zu zeigen scheinen, daß das Respirationszentrum in erster Linie von der Kohlensäurespannung des Blutes beeinflußt wird, während die Reaktion des Blutes ein unwesentlicher Faktor ist.

Es handelt sich also lediglich darum, zu entscheiden, ob diese Versuche uns das Recht geben, die *Winterstein-Hasselbalch*sche Theorie

abzulehnen, oder ob die in den Versuchen der letzten Jahre gefundenen Divergenzen sich mit Hilfe gewisser Änderungen in der ursprünglichen Theorie erklären lassen.

Die wichtigste Ausformung, die die Theorie und das Zusammenspiel der Reaktion des Blutes mit der Regulierung der Atmung erfahren haben, stammt von *Winterstein*[1]) her, der angibt, daß die chemische Regulierung der Lungenventilation von der in dem Atmungszentrum herrschenden Reaktion bedingt ist. Die Reaktion des Atmungszentrums hängt 1. von den in demselben stattfindenden Stoffwechselprozessen und 2. von der Reaktion des Blutes ab. Durch den Übergang abnormer Mengen Säure in das Blut wird eine hämatogene Hyperpnoe hervorgerufen, durch die auf Grund des Sauerstoffmangels im Respirationszentrum gebildete Milchsäure hingegen eine zentrogene Hyperpnoe.

Einem ähnlichen Gedanken begegnet man bei *Gesell*[2]), der denselben noch erweitert und auf die Bedeutung der Blutzirkulation durch das Zentrum hinweist. *Gesell* macht auch auf den Unterschied aufmerksam, der mutmaßlich teils infolge mangelnder Ausgleichung der in dem Respirationszentrum gebildeten Säure, teils auf Grund des durch einen Donnaneffekt bedingten Reaktionsunterschiedes zwischen Geweben und Blut besteht.

Das letztere Verhältnis kann ohne weiteres außer Betracht gelassen werden, denn einerseits müssen die möglicherweise vorhandenen Differenzen in der Reaktion des Blutes und der Gewebe, wenn das Gleichgewicht eingetreten ist — nach *Warburgs* Untersuchungen (s. S. 222 bis 223) über Plasma und die roten Blutkörperchen[3]) —, sehr klein sein, und andererseits muß das Verhältnis für die verschiedenen Säuren (Kohlensäure kontra andere Säuren) das gleiche sein; es ist daher für das uns in dieser Verbindung interessierende Problem ohne Belang.

Besondere Beachtung hingegen verdient die Frage von einem temporären, von der Richtung und der Diffusionsgeschwindigkeit der betreffenden Stoffe bedingten Fehlen des Gleichgewichts zwischen der Reaktion des Blutes und der Gewebe, und zwar speziell des Respirationszentrums. Bei Kohlensäureeinatmung und Säureinjektionen muß der Ausgleich von Blut zu Gewebe stattfinden; bei Sauerstoffmangel von Gewebe zu Blut. Wenn der Ausgleich langsam vor sich geht, sind solche Differenzen zwischen der Reaktion des Blutes und derjenigen der Gewebe denkbar, daß man die Frage nicht unbeachtet lassen kann.

---

[1]) Diese Zeitschr. **70**, 45, 1925; Pflügers Archiv **187**, 293, 1921.
[2]) Physiol. Rev. **5**, 551 bis 595, 1925.
[3]) Biochem. Journ. **16**, 153 bis 340, 1922.

Man hat in diesem Verhältnis sogar Aufschluß über den zwischen dem Einfluß der Kohlensäure und dem anderer Säuren auf die Respiration bestehenden Unterschied finden zu können vermeint.

In „The Acid-base Equilibrium of the Blood" (1923) schreibt „the Hemoglobin Committee", S. 53, man könne in dem von *Jacob*[1]) nachgewiesenen Umstande, wonach die Zellen durch Zusatz von Kohlensäure zu dem äußeren Medium erheblich besser sauer gemacht werden können als durch andere Säuren, wenn die p_H der äußeren Flüssigkeit die gleiche sei, möglicherweise die Erklärung der großen Reizbarkeit des Respirationszentrums gegenüber der Kohlensäure im Vergleich mit anderen Säuren finden. Das von *Jacob* ermittelte Phänomen muß der großen Diffusionsgeschwindigkeit der Kohlensäure im Vergleich mit der anderer Säuren oder vielmehr der der Anionen durch das Zellenmembran zuzuschreiben sein.

Gesell hegt offenbar einen ähnlichen Gedanken, wenn er schreibt[2]): „verminderte Aufnahme von Sauerstoff in das Respirationszentrum führt in diesem eine Anhäufung der verhältnismäßig wenig diffusiblen Milchsäure in dem relativ wenig pufferhaltigen Cytoplasma und der Lymphe usw. herbei."

Daß die Kohlensäuretension (und dadurch die Reaktion) des Respirationszentrums von der Kohlensäuretension (und Reaktion) des durchströmenden Blutes bei Einatmung von kohlensäurereicher Luft, wo die Kohlensäure vom Blute in die Gewebe diffundieren muß, nicht erheblich abweichen kann, ist auf Grund der großen Diffusionsgeschwindigkeit der Kohlensäure als einigermaßen feststehend zu erachten.

Die Fragestellung wird alsdann: Kann man die Reaktion des Blutes auch als zuverlässigen Maßstab für die Reaktion der Gewebe selbst unter so verschiedenartigen Versuchsbedingungen wie Milchsäureinjektion in das Blut und eine primäre Milchsäurebildung in den Geweben bei Sauerstoffmangel betrachten? Derartige Fragen sind für die „Reaktionstheorie" ausschlaggebend.

Was diesen Punkt anbelangt, hat es keinen Zweck, sein Augenmerk auf die langsam diffusible Milchsäure zu richten, denn auch wenn u. a. nachgewiesen worden ist, daß das Milchsäureanion, wenn es sich um die Membrane der Blutkörperchen handelt, etwa 50mal so langsam diffundiert wie die Cl^-, die wiederum langsamer diffundiert als das Bicarbonation[3]), so ist dies für das vorliegende Problem ohne direkte Bedeutung. Gleichviel, ob sich die Milchsäure in den Geweben bildet oder ob Milch-

---

[1]) Amer. Journ. of Physiol. **51**, 321; **53**, 457, 1920.
[2]) Physiol. Rev. 1926, S. 569.
[3]) *Rich. Ege*, diese Zeitschr. **130**, 1922.

säure (oder eine andere Säure) in das Blut injiziert wird, so bildet dieselbe sogleich Salz (Anionen), und die Reaktion des Blutes und der Gewebe wird ständig von der $C_{H^+} = K \cdot \frac{H_2CO_3}{HCO_3^+}$ bestimmt; dies gilt für alle die untersuchten Säuren innerhalb desjenigen Reaktionsbegriffes, welcher Bedeutung hat — da ja nicht vergessen werden darf, daß, wenn die Reaktion des Blutes und der Gewebe etwa $10^{-6,5}$ übersteigt, das Respirationszentrum nicht einmal mehr gegen die gewöhnlichen Irritamente (Kohlensäure, C_{H^+}) erregbar ist.

Die Fragestellung beschränkt sich demnach auf folgendes:

Lassen sich die Schwierigkeiten bei der Reaktionstheorie unter der Annahme, daß der Ausgleich zwischen Gewebe und Blut (oder Blut und Gewebe) schneller und daher durch Verschiebungen in der Konzentration der H_2CO_3 vollständiger erfolgt als durch Verschiebungen in der Konzentration der HCO_3^+, wegerklären? In diesem Zusammenhang sind die relativen Penetrationsgeschwindigkeiten der verschiedenen Anionen durch die Gewebe belanglos. Es ist sicher verfrüht, zu der Frage, ob die sich für die Reaktionstheorie immer fühlbarer machenden Schwierigkeiten durch die obengenannte — an und für sich sehr plausible — Annahme wegzuerklären sind, bestimmt Stellung zu nehmen; wir glauben aber, daß viele unserer Versuche, und zwar hauptsächlich die langdauernden (s. Versuch S. 459 bis 460 mit $CaCl_2$-Vergiftung oder Versuch S. 458 mit Bicarbonatinjektion) solcher Art gewesen sind, daß sich ein Gleichgewicht zwischen Blut und Gewebe herausgestellt hat — und doch zeigt die Kohlensäure eine ganz andere Wirkung auf die Atmung als die entsprechenden, durch Verminderung der HCO_3-Menge herbeigeführten Reaktionsverschiebungen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Durch Einatmung kohlensäurehaltiger Luft erhält man eine sehr erhebliche Ventilationsvermehrung, obwohl die Reaktion des Blutes eine ganz geringe Verschiebung erlitten hat, während entsprechende (oder erheblich größere) durch Säureinjektion in das Blut, oder Säureresorption aus dem Darm hervorgerufene Reaktionsverschiebungen eine viel schwächere Ventilationsvermehrung herbeiführen. Die Wirkung der Kohlensäure auf das Respirationszentrum ist deshalb schwerlich als Folge der Reaktionsverschiebung zu deuten, sie muß vielmehr spezifischer Natur sein.

2. Der Sauerstoffmangel bewirkt eine erhebliche Ventilationsvermehrung und eine Reaktionsverschiebung nach der basischen Seite (die C_H wird um etwa 35 Proz. herabgesetzt).

3. Das Einatmen von mehr als etwa 20 Proz. Kohlensäure enthaltender Luft hebt die Reizbarkeit des Respirationszentrums auf;

wird sehr kohlensäurereiche Luft (75 Proz.) eingeatmet, so lassen sich sehr erhebliche Reaktionsverschiebungen nach der sauren Seite hin hervorrufen.

4. Bei normalen Kaninchen haben wir die p_H des Blutes 7,15 ermittelt. Nach Säureinjektion ist die p_H bis etwa 6,8 verschoben, bei Einatmen von 75 Proz. CO_2 war die p_H = etwa 5,6; Injektion von $NaHCO_3$ ergab $p_H = 7{,}3$ (d. h. eine Verminderung der C_H bis 66 Proz. des Normalwertes).

5. Durch willkürlichen Respirationsstillstand (bei Menschen) fanden wir die C_H um etwa 25 Proz. vermehrt, bei Hyperventilation indes um etwa 35 Proz. vermindert.

Über den Einfluß des Carnosins auf die Sekretionsarbeit der Magendrüsen.

Von

R. Krimberg und **S. A. Komarow.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Riga.)

(Eingegangen am 22. Juli 1926.)

In der letzten Zeit sind aus dem hiesigen Laboratorium mehrere Arbeiten publiziert worden, welche im allgemeinen der Frage nach der Bedeutung der Muskelhormone im physiologischen Haushalt des Organismus und speziell im Sekretionsprozesse der Verdauungsdrüsen gewidmet sind. In einigen von diesen Arbeiten werden auch ziemlich viele Versuche mitgeteilt, in welchen die physiologische Aktivität des Carnosins sehr deutlich zutage tritt[1]), und durch welche die von einem von uns schon vor längerer Zeit geäußerte Meinung, nämlich, daß wir das Carnosin als einen wichtigen dynamischen Erreger bzw. als ein wahres Hormon des Tierkörpers zu betrachten haben, sehr wesentlich gestützt wird[2]).

Bekanntlich wird das Carnosin vorläufig nur aus dem Muskelgewebe in erheblicher Menge erhalten, und es liegen bis jetzt keine Angaben vor, daß sein Vorkommen auch im Blute nachgewiesen worden wäre. Nach dem zurzeit vorliegenden, aber sicher noch äußerst spärlichen Untersuchungsmaterial zu urteilen, scheint das Carnosin, wie schon bereits von *W. Gulewitsch* ausgesprochen, wohl ein spezifischer Bestandteil des Muskelgewebes zu sein. Hieraus darf jedoch natürlich durchaus noch nicht der Schluß gezogen werden, daß in solchem Falle das Carnosin unter physiologischen Verhältnissen im zirkulierenden Blute vollständig fehlen müßte. In einer neuerdings erschienenen Arbeit „Über organische Basen des Harns" von *Julie Hefter*[3]) (aus dem Laboratorium von *W. Gulewitsch*) äußert sich die Autorin, welche im Harn kein Carnosin nachweisen konnte, dahin, daß das in den Muskeln enthaltene Carnosin im Organismus gespalten und

[1]) *R. Krimberg*, diese Zeitschr. **157**, 188, 1925; *S. A. Komarow*, ebendaselbst **151**, 467, 1924.

[2]) *R. Krimberg*, Zur Frage nach dem Sekretionsmechanismus der Magendrüsen, Charkow 1915; *Derselbe*, Die Hormone, Charkow 1918.

[3]) *Julie Hefter*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **145**, 294, 1925.

deshalb als solches durch die Nieren nicht ausgeschieden wird. Wenn man die chemische Natur des Carnosins als eines Dipeptids in Betracht zieht, so erscheint eine solche Vermutung auch unseres Erachtens natürlich als sehr plausibel. Es könnte in der Tat möglich sein, daß das Carnosin, welches aus den Muskeln regelmäßig nur in sehr kleinen Mengen und fortwährend ins Blut abgeschieden wird, daselbst oder auch irgendwo in den Organen des Körpers einem mehr oder weniger schnellen Abbau unterliegt. Wir möchten hier nur an das Adrenalin erinnern, welches ja bekanntlich ein spezifischer Bestandteil des chromaffinen Systems ist und ebenfalls sehr schnell aus dem Blute verschwindet; es wäre aber wohl sicher falsch, wenn wir aus dieser letzteren Tatsache den Schluß ziehen möchten, daß das Adrenalin unter normalen physiologischen Verhältnissen im allgemeinen Kreislauf vollständig fehlt, oder sogar, daß dasselbe im physiologischen Haushalt des Organismus überhaupt von keiner Bedeutung ist.

In der vorliegenden Arbeit sind wir imstande, weiteres ziemlich umfangreiches Versuchsmaterial aufzuführen, aus welchem die schon früher von uns konstatierte, recht bedeutende Fähigkeit des Carnosins, auf die Magendrüsen excitosekretorisch einzuwirken, ebenfalls vollständig klar zu ersehen ist. Die Versuche wurden teils an Hunden, denen außer einer einfachen Fistel im Magenfundus noch eine Ösophagusfistel angelegt worden war, teils aber auch an zwei Hunden mit einem Blindsack im Fundus des Magens nach *Heidenhain-Pawlow* ausgeführt.

Das von uns in diesen Versuchen angewandte Präparat des Carnosins war aus dem *Liebig*schen Fleischextrakt auf die übliche Weise gewonnen und durch mehrfaches Umkristallisieren aus etwa 90proz. warmen Alkohol gereinigt (F. 249 bis 250° C unter Zersetzung). Die zur Einverleibung bestimmten Lösungen wurden stets unmittelbar vor der Injektion und steril vorbereitet, derart, daß die jeweils nötige Menge des Carnosins zuerst in einer möglichst geringen Quantität frisch destillierten warmen Wassers gelöst, die Lösung mit Normalsalzsäure neutralisiert und endlich mit Wasser bis zu einem Gehalt an Carnosin von 5 oder 10 Proz. aufgefüllt wurde.

Die Lösungen wurden immer in die Vena jugularis ext. eingeführt, wobei durch die Prozedur der Injektion als solche bei den Versuchshunden, außer einer kurzdauernden Pulsbeschleunigung (um etwa 20 bis 50 Schläge während 1 bis 2 Minuten), wie die zahlreichen Kontrollinjektionen von physiologischer Kochsalzlösung zeigten, niemals irgend eine andere merkbare Reaktion hervorgerufen werden konnte. Im allgemeinen wurden die intravenösen Injektionen der Carnosinlösungen von den betreffenden Hunden sogar leichter vertragen als die Injektionen z. B. von 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung subkutan.

Versuche an ösophagostomierten Hunden mit einfacher Magenfistel.

Die betreffenden Hunde wurden täglich von 9 Uhr morgens bis 3 Uhr nachmittags im Gestell gehalten, in einem Raume, welcher nur für die Ausführung der eigentlichen Versuche bestimmt ist. In solcher Lage sich selbst überlassen, schlummerten die Hunde während des größeren Teiles dieser Zeit mehr oder weniger fest, dabei nicht selten sogar sehr kräftig schnarchend, und schieden aus der Magenfistel nur geringe Mengen (0,5

bis 2,0 ccm während einer halben Stunde) Schleim, gewöhnlich von alkalischer Reaktion ab. Nach 3 Uhr wurden die Tiere zwecks Fütterung in einen anderen Raum übergeführt. Die Versuche mit dem Carnosin wurden, wie schon erwähnt, im ersten Raume in der Zeit von 9 Uhr morgens an ausgeführt, wobei man auf die Ausschaltung aller eventuellen psychischen Einflüsse natürlich stets aufs sorgfältigste bedacht war.

An ösophagostomierten Hunden wurden im ganzen neun Versuche durchgeführt. Das Carnosin wurde in Gaben von 0,5 bis 0,15 g freie Base oder, auf Körpergewicht der Tiere berechnet, in Gaben von 56 bis 12 mg pro 1 kg injiziert. Die hierzu gehörigen Versuchsresultate sind in der am Ende der Arbeit angeführten Tabelle I unter den Nummern 1 bis 9 zusammengestellt, und man sieht daraus, daß das Carnosin, in den obengenannten Gaben intravenös appliziert eine sehr bedeutende Sekretion des Magensafts hervorzurufen imstande ist. In den Versuchen 2 bis 6 sind im ganzen nach Einverleibung von 2,31 g (= 0,5 + 0,5 + 0,5 + 0,45 + 0,36 g) Carnosin 131,5 ccm (= 14 + 28 + 22 + 43,5 + 24,0 ccm) Magensaft abgesondert worden. Mit anderen Worten haben die Magendrüsen in diesen Versuchen auf 1 g einverleibtes Carnosin mit Absonderung von etwa 52 ccm Magensaft reagiert. Manchmal jedoch kann die Sekretion des Magensafts unter dem Einfluß des Carnosins sogar eine profuse sein, wie z. B. im Versuch 1, wo durch eine Gabe von nur 0,5 g der Base die Abscheidung von 174 ccm Magensaft (Gesamtacidität = 142) hervorgerufen wurde.

Die durch Einverleibung des Carnosins bewirkte Sekretionsarbeit der Magendrüsen tritt gewöhnlich nach einer deutlich abgegrenzten Latenzperiode von 5 Minuten zum Vorschein, erreicht ihr Maximum am häufigsten schon während der ersten, eventuell aber auch nur während der zweiten Halbstunde nach der Injektion, und wird dann allmählich schwächer in ihrer Intensität, um schließlich (bei Gaben von 40 bis 55 mg pro 1 kg) während der vierten oder fünften Halbstunde nach der Injektion ganz zum Stillstand zu gelangen.

Von den allgemeinen Reaktionserscheinungen seitens des Organismus konnte in diesen Versuchen nur eine unbedeutende Beschleunigung des Pulses und Abnahme seiner Füllung während der ersten 5 bis 15 Minuten nach der Injektion des Carnosins, sowie ein deutliches wiederholtes Knurren in den Gedärmen wahrgenommen werden.

Versuche an Hunden mit dem Magenblindsack nach Heidenhain-Pawlow.

Die betreffenden zwei Hunde waren im Oktober 1925 ohne irgendwelche störende Komplikationen operiert worden. Beim Hunde L. (Gewicht 17 kg) wurde etwa der dritte Teil und beim Hunde S. (Gewicht 11,5 kg) etwa der fünfte Teil des ganzen Magens als Blindsack aus dem Fundus herauspräpariert. Auch diese Hunde waren während des ganzen Jahres an bestimmte Ordnungsmäßigkeit im Laboratorium gewöhnt. Von 8 Uhr morgens bis 1 Uhr nachmittags wurden sie im eigentlichen Experimentierraum im

Tabelle

Nr.	Datum	Hund	Körpergewicht kg	Art der Operation	Einverleibtes Carnosin: Volle Gabe g	Lösungsmenge ccm	Gabe pro 1 kg Gew. mg	Menge des ausgeschiedenen Magensaftes während halbstündiger Zeitintervalle in ccm: vor der Inj. 1.	Reaktion der Schleimhaut	nach der Injektion 1.	2.	3.	4.	5.	6.	Dauer der latenten Periode Min.
1	1925 28. X.	T.	9,0	Einfache Magenfistel und Oesophagostomie	0,50	10,0	56,0	2,0	alk.	50,0	74,0	40,0	8,0	2,0	alk.	5
2	1926 9. II.	T.	9,0		0,50	10,0	56,0	2,0	„	4,0	5,0	5,0	alk.	—	—	8
3	12. II.	T.	9,0		0,50	10,0	56,0	2,0	neutr.	11,0	12,0	3,0	2,0	alk.	—	5
4	15. II.	T.	9,0		0,50	10,0	56,0	2,0	alk.	9,0	8,0	5,0	1,0 alk.	—	—	5
5	16. IV.	T.	9,0		0,45	9,0	50,0	2,0	„	14,0	15,0	12,0	2,0	0,5	alk.	5
6	17. IV.	T.	9,0		0,36	7,2	40,0	1,0	„	16,0	8,0	alk.	—	—	—	5
7	18. IV.	T.	9,0		0,25	5,0	28,0	2,0	„	4,0	4,0	„	—	—	—	5
8	19. II.	T.	9,0		0,22	4,4	24,4	2,0	„	3,0	1,5	„	—	—	—	5
9	1925 28. X.	C.	12,5		0,15	3,0	12,0	1,0	„	alk.	alk.	„	—	—	—	—
10	1926 15. IV.	S.	11,5	Magenblindsack nach *Heidenhain-Pawlow*	1,10	11,0	96,0	0,5	„	2,0	3,0	2,0	1,7	alk.	—	5
11	13. IV.	S.	11,5		0,90	9,0	78,0	0,5	„	2,5	7,0	3,0	3,0	1,5	0,5	5
12	7. V.	S.	11,5		0,50	5,0	43,5	0,0	neutr.	1,5	1,0	1,0	0,3	0,0	—	5
13	28. V.	S.	11,5		0,50	10,0	43,5	0,3	alk.	0,5	2,5	0,5	alk.	—	—	5
14	14. IV.	S.	11,5		0,45	9,0	37,4	0,5	„	2,0	1,7	0,7	0,5	alk.	—	5
15	1. VI.	S.	11,5		0,20	4,0	17,4	0,2	„	2,0	1,5	0,5	alk.	—	—	5
16	15. IV.	L.	17,0		0,75	7,5	44,2	0,2	„	3,0	3,0	2,0	1,5	0,5	0,0	5
17	14. IV.	L.	17,0		0,50	10,0	29,4	0,5	„	2,5	1,0	0,5	0,3	alk.	—	10
18	11. V.	L.	17,0		0,50	10,0	29,4	0,5	„	4,0	3,0	0,5 alk.	—	—	—	5
19	1. VI.	L.	17,0		0,25	5,0	14,7	0,2	„	0,5	2,0	1,5	0,5	—	—	5

Abkürzungen: alk. = alkalisch, b. = bis, Inj. = Injektion, Lsg. = Lösung, n. = nach, neutr. =

Gestell gehalten, wonach sie in ein anderes Zimmer zwecks Fütterung übergeführt wurden. Zur Nacht erhielten die Tiere nur Wasser ad libitum. Alle Versuche an denselben wurden in der Zeit von 8 Uhr morgens bis 1 Uhr nachmittags vorgenommen.

Nach Verabreichung von 500 ccm Milch konnten aus dem Blindsack während 4 Stunden beim Hunde L. etwa 20 ccm Magensaft (Gesamtacidität = 110, freie Salzsäure = 90) und beim Hunde S. etwa 16 ccm Magensaft (Gesamtacidität = 140, freie Salzsäure = 120) erhalten werden.

In diesen Versuchen wurden Gaben des Carnosins von 96 bis 14,7 mg freie Base pro 1 kg Körpergewicht intravenös appliziert. Die Resultate sind in der Tabelle unter den Nummern 10 bis 19 zusammengestellt, und man kann daraus sehr deutlich ersehen, daß das Carnosin auch in diesen Versuchen eine ziemlich bedeutende Absonderung des Magensafts hervorgerufen hat, obwohl die ausgeschiedenen Mengen desselben, auf die Einheit der injizierten Substanzmenge bezogen, nicht

Dauer der latenten Periode Min.	Sekretionsdauer Min.	Gesamtmenge des ausgeschiedenen Magensaftes ccm	Gesamtacidität ccm n/10 Lsg.	Freie Salzsäure ccm n/10 Lsg.	Nebenerscheinungen
5	150	174,0	142	132	Pbschl. v. 120 b. 135 wh. 5′ n. Inj.; Knurren in den Gedärmen
8	90	14,0	40	0	Pbschl. v. 100 b. 150—120 wh. 5′ n. Inj; Knurren in den Gedärmen
5	120	28,0	86	64	Pbschl. v. 105 b. 150—120 wh. 5′ n. Inj.; Knurren in den Gedärmen
5	90	22,0	52	46	Pbschl. v. 100 b. 130 wh. 5′ n. Inj.
5	150	43,5	84	58	Pbschl. v. 110 b. 135—120 wh. 5′ n. Inj.; Knurren in den Gedärmen
5	60	24,0	84	61	Pbschl. v. 100 b. 120 wh. 2′ n. Inj.; Knurren in den Gedärmen
5	60	8,0	8	0	Keine merkbaren
5	60	4,5	9	0	" "
—	—	0,0	—	—	" "
5	120	8,7	127	67	Pbschl. v. 70—80 b. 150 wh. 5′ und b. 110 wh. w. 15′ n. Inj.; Knurren in den Gedärmen
5	180	17,5	118	65	Pbschl. v. 80 b. 110 wh. 5′ n. Inj.; Knurren in den Gedärmen
5	120	3,8	94	56	" v. 80 b. 120 wh. 5′ n. Inj.; " " " "
5	90	3,5	87	40	" v. 90 b. 120 wh. 1′ n. Inj.; " " " "
5	120	4,9	110	66	" v. 70 b. 110 wh. 5′ n. Inj.; " " " "
5	90	4,0	85	33	" v. 75 b. 120 wh. 2′ n. Inj.; " " " "
5	150	10,0	54	31	" v. 120 b. 140 wh. 5′ n. Inj.; " " " "
10	120	4,3	78	36	" v. 120 b. 180 wh. 7′ n. Inj.; " " " "
5	60	7,0	105	77	" v. 120 b. 180—130 wh. 5′ n. Inj.; Abgang von Gasen aus dem Rectum; Knurren in den Gedärmen
5	120	4,5	85	33	Pbschl. v. 95 b. 120 wh. 1′ n. Inj.; Knurren in den Gedärmen

neutr. = neutral, Pbschl. = Pulsbeschleunigung, v. = von, w. = weiterer, wh = während.

immer die gleichen sind. Auch hier beginnt die Sekretion gewöhnlich nach einer Latenzperiode von 5 Minuten, dauert durchschnittlich etwa 2 Stunden und weist in ihrem Gange meistensteils eine regelmäßige Kurve auf.

Die anläßlich der vorher beschriebenen Versuche schon erwähnte Beschleunigung des Pulses und Abnahme seiner Füllung während der ersten 5 bis 10 Minuten nach der Injektion des Carnosins, sowie eine Steigerung der Darmmotilität (Knurren in den Gedärmen, Abgang von Gasen aus dem Rektum) konnten auch in diesen Versuchen deutlich wahrgenommen werden.

Die kleinsten Gaben, in welchen das Carnosin noch deutlich auf die Magendrüsen sekretionserregend einwirkt, liegen bei unseren Versuchsbedingungen, wie aus der Gesamtheit der Versuche an ösophagostomierten, sowie an Hunden mit dem Magenblindsack zu ersehen ist,

zwischen 10 und 20 mg freie Base auf 1 kg Körpergewicht. Wir möchten aber auch an dieser Stelle ganz besonders darauf hinweisen, daß unter normalen physiologischen Verhältnissen der chemische Koordinationsbetrieb zwischen den verschiedensten Teilen des Organismus fast immer nur bei äußerst verdünnten Konzentrationen der wirksamen Stoffe in seinem gewöhnlichen zweckmäßigen Gang unterhalten wird, und daß die durch ein Tierexperiment ermittelte minimale, noch eben wirksame Dosis einer endogenen Substanz der physiologisch wirksamen Konzentration derselben im Blute natürlich in keinem Falle entspricht. Dies scheint uns auch speziell für das Verständnis des intimeren Arbeitsmechanismus der Verdauungsdrüsen von größter Bedeutung zu sein, da bei dieser Arbeit infolge des Prozesses der Nahrungsaufnahme, sowie infolge der Anwesenheit und chemischer Verarbeitung der Nahrung im Magendarmkanal die Grenzschichten der Drüsenzellen auf reflektorischem Wege durch die Erregung der betreffenden Nervenelemente für die im Blute zirkulierenden excitosekretorischen Hormone mehr oder weniger leicht permeabel werden, so daß dieselben selbstverständlich auch sogar bei den geringsten Konzentrationen aus dem Blute in die Drüsenzellen hineindringen und dieselben zur sekretorischen Arbeit erregen können[1]).

[1]) *R. Krimberg*, diese Zeitschr. **157**, 197, 1925.

Experimentelle Untersuchungen über die physikalisch-chemischen Grundlagen der Geschmacksempfindung nach Säurelösungen.

Von

Eugen Baráth und **Josef Vándorfy.**

(Aus der III. medizinischen Klinik der kgl. ung. Pázmány-Péter-Universität in Budapest.)

(Eingegangen am 22. Juli 1926.)

Mit der Entwicklung der physikalischen Chemie hat man wiederholt versucht, diejenigen physikalisch-chemischen Faktoren, die bei der Entstehung des sauren Geschmacks die entscheidende Rolle spielen, näher zu erforschen.

So verglich *Corin* schon im Jahre 1888 eine Reihe von äquimolekularen Säurelösungen hinsichtlich ihres sauren Geschmacks. Er fand dabei, daß die Säuren mit dem niedrigsten Molekulargewicht am stärksten sauer empfunden werden. Nach der Erkenntnis, daß dieselben auch die am besten dissoziierten sind, haben *Richards*, *Kahlenberg*, *Höber*, *Kiesow* u. a. die Rolle des Dissoziationsgrades in den Vordergrund gestellt. Es wurde die Frage aufgeworfen, ob das H-Ion allein als ursächliches Moment der sauren Empfindung betrachtet werden kann. Die späteren Untersuchungen konnten diese Auffassung nicht bestätigen. So haben *Noyes*, *Zwaardemaker*, *Th. Paul*, *Liljestrand* u. a. m. festgestellt, daß die schwächeren Säuren mit gleicher H^+-Konzentration relativ saurer schmecken als die stärkeren. Die späteren Autoren geben zu, daß die H^+-Konzentration für die Erregung des sauren Geschmacks von großer Bedeutung ist; neben der aktuellen Acidität scheinen aber auch andere Faktoren, so die potentielle Acidität, die nicht dissoziierten Moleküle, vielleicht auch die Anionen eine nicht zu vernachlässigende Rolle zu spielen. Über den Mechanismus ihrer Wirkungsweise sind die Meinungen geteilt. So spielt nach *Liljestrand* die Pufferwirkung der schwächeren Säurelösungen eine wichtige Rolle, indem sie im Besitz einer größeren potentiellen Acidität leichter imstande sind, die mit der Neutralisierung durch den Speichel in Verlust gekommenen freien H-Ionen mittels weiterer Dissoziation zu ersetzen. Dagegen ist nach *Rosenbaum* das verschiedene Verhalten der schwach dissoziierten Säuren nicht auf eine Pufferwirkung, sondern auf die verschiedene Diffusionsgeschwindigkeit derselben zurückzuführen.

Unsere Untersuchungen hatten zum Ziele, an einem größeren Material festzustellen, in welchem Grade hier die individuellen Eigentümlichkeiten eine ausschlaggebende Rolle spielen. So war die Frage zu lösen, ob bei verschiedenen Personen die Empfindungsschwelle von derselben starken oder schwachen Säure eventuell nicht erhebliche Schwankungen zeigt, ferner, ob die Differenz im Verhalten gegenüber einer starken oder schwachen Säure bei einem jedem konstant zu finden ist. Bei gleichzeitiger Ausführung des Probefrühstücks von *Ewald-Boas* wollten wir untersuchen, ob die Intensität der Säureproduktion des Magens nicht mit den Gesetzmäßigkeiten in Beziehung steht, welche in dem Zusammenhang der physikalisch-chemischen Eigenschaften sauer schmeckender Körper und dem sauren Geschmack zum Ausdruck kommen.

Wir haben unsere Versuche bei 70 Personen angestellt. Diese Untersuchungen müssen immer unter gleichen Bedingungen und mit der größten Sorgfalt ausgeführt werden, da erhebliche Fehlerquellen die Resultate stark beeinflussen können. Bei dem einzelnen Versuch haben wir von den zuerst angewandten größeren Flüssigkeitsmengen (1 bis 5 ccm) abgesehen, da der Nachgeschmack bei diesem Verfahren auf die folgende Untersuchung sehr störend wirkt. Wir haben darum auf die vorgestreckte Zunge (Spitze und Ränder) nur 0,10 ccm der zu prüfenden Lösung tropfen lassen. Wenn dabei kein Geschmack empfunden wurde, erlaubten wir dem Patienten, die Zunge zurückzuziehen und die Flüssigkeit im Munde zerfließen zu lassen. Vor und nach jeder Untersuchung wurde der Mund mit Wasser sorgfältig ausgespült. Bei der Vergleichung von zwei Lösungen haben wir die Untersuchung mehrmals wiederholt und nur die eindeutigen Resultate verwertet. Zum Vergleich wählten wir als starke Säure eine Salzsäurelösung, als schwache Säure eine Essigsäurelösung.

Bei der ersten Versuchsreihe (36 Fälle) haben wir folgende Lösungen verwendet: Lösungen von $p_H = 4$ und $p_H = 3$ (Elektrometrisch mit der Gaskettenmethode kontrolliert). 1. Reine Salzsäure, 2. 2 Teile von Salzsäure + 1 Teil von Essigsäure, 3. 1 Teil von Salzsäure + 2 Teile von Essigsäure, 4. reine Essigsäure. Lösungen von $p_H = 2$: 1. reine Salzsäure, 2. 2 Teile von Salzsäure + 1 Teil Essigsäure, 3. gleiche Teile von Salzsäure und Essigsäure, 4. 1 Teil von Salzsäure + 2 Teile Essigsäure, 5. reine Salzsäure. Das Ergebnis dieser mit 13 Lösungen angestellten Untersuchungsreihe zeigt *Tabelle 1.*

Man sieht, daß die Empfindungsschwelle bei der überwiegenden Zahl der Fälle (28) im Bereich von $p_H = 3$ liegt. Die stärkere Wirkung der Essigsäurelösung ist gegenüber einer HCl-Lösung mit gleicher H^+-Konzentration deutlich ausgeprägt. Solche Fälle, wo alle Lösungen mit gleicher H^+-Konzentration gleich sauer schmecken (z. B. Fall 10), sind Ausnahmen. Die Aciditätsverhältnisse des Magens scheinen mit der Geschmacksschärfe nicht in Zusammenhang zu stehen.

Tabelle I.

Nr.	Name	$p_H = 4$				$p_H = 3$				$p_H = 2$					Probefrühstück		
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	5	ccm	fr. HCl	G.A.
1	*H. Gy.*	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	<	<	<	20	8	22
2	*Sz. J.*	—	—	—	?	+	<	<	<	<	<	<	<	<	105	7	19
3	*Cs. M.*	—	—	—	—	—	+	<	<>		<	<	<	<	200	15	25
4	*H. T.*	—	—	—	—	+	<	<	<	<	<	<	<	<	38	16	31
5	*F. J.*	—	—	—	—	—	+	=	=	=	=	<	<	<	50	15	24
6	*Cs. S.*	+	=	<	<	<	=	<	<>		=	<	<	<	50	13	22
7	*G. S.*	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	=	<	<	25	19	29
8	*Sch. I.*	—	—	—	—	—	+	=	=	=	=	=	<	<	50	19	31
9	*L. J.*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	<	<	<	84	21	35
10	*Sch. J.*	—	?	+	=	=	=	=	=	=	<	<	<	<	25	26	40
11	*B. R.*	—	—	—	—	—	+	=	<	<	<	<	<	<	50	23	38
12	*I. M.*	?	=	=	=	+	=	=	<>		=	=	<	<	65	22	31
13	*L. I.*	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	=	<	<	50	29	42
14	*B. K.*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	<	<	<	40	19	35
15	*L. J.*	—	—	—	—	—	+	=	=	=	<	<	<	<	60	21	34
16	*M. K.*	—	—	—	—	+	<	<	<>		<	<	<	<	120	28	39
17	*G. F.*	—	—	—	—	—	—	+	<	<	<	<	<	<	160	37	48
18	*B. J.*	—	—	—	—	+	<	<	<	<	<	<	<	<	50	35	42
19	*M. D.*	—	—	—	+	<	=	<	<	<	<	<	<	<	25	35	46
20	*T. K.*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	<	10	34	48
21	*K. B.*	—	—	—	—	—	+	=	=	=	=	<	<	<	60	33	46
22	*Sch. F.*	—	—	—	—	—	+	=	<	<	<	<	<	<	60	33	44
23	*L. M.*	—	—	—	—	—	+	<	<>		<	<	<	<	60	30	44
24	*D. I.*	—	—	—	—	—	+	+	+	<	=	=	<	<	126	38	48
25	*A. L.*	—	—	—	—	+	=	=	<	=	<	<	<	<	30	30	54
26	*P. Gy.*	—	—	—	—	+	=	=	<	=	<	<	<	<	12	40	52
27	*H. E.*	—	—	—	—	—	+	<	<	=	<	<	<	<	38	40	54
28	*Sch. B.*	—	—	—	—	—	+	=	=	=	=	<	<	<	40	44	56
29	*B. J.*	—	—	—	—	—	—	—	—	+	=	<	<	<	35	51	61
30	*Sz. G.*	—	—	—	+>	+	<	<	<	<	<	<	<	<	80	60	76
31	*H. J.*	—	—	—	—	—	+	=	=	<	<	<	<	<	15	41	50
32	*D. G.*	—	—	—	—	—	+	=	=	=	=	<	<	<	90	50	58
33	*M. M.*	—	—	—	—	+	<	<	<	=	<	<	<	<	120	52	57
34	*N. É.*	—	—	—	—	—	+	<	<	=	<	<	<	<	50	8	22
35	*N. I.*	—	—	—	—	+	=	=	<	=	<	<	<	<			
36	*V. J.*	—	—	—	—	+	<	<	<	<	<	<	<	<	20	6	10

Bei $p_H = 4$ und $p_H = 3$
1 = reine Salzsäure,
2 = $^2/_3$ HCl + $^1/_3$ Essigsäure,
3 = $^1/_3$ HCl + $^2/_3$ „
4 = reine Essigsäure.

Bei $p_H = 2$
1 = reine Salzsäure,
2 = $^2/_3$ HCl + $^1/_3$ Essigsäure,
3 = $^1/_2$ HCl + $^1/_2$ „
4 = $^1/_3$ HCl + $^2/_3$ „
5 = Essigsäure.

Bei der zweiten Versuchsreihe (34 Fälle) verwendeten wir folgende Lösungen: a) Salzsäure, b) Essigsäure, 1. = n/1000, 2. = n/500, 3. = n/100, 4. = n/50, 5. = n/10. Das Resultat zeigt *Tabelle II.*

Tabelle II.

Nr.	Name	I		II		III		IV		V		Probefrühstück		
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	ccm	fr. HCl	G. A.
1	*D. L.*	—	—	s.+	—	+>	+	+=	+	+=	+	40	0	10
2	*L. M.*	—	—	—	+	+>	+	+>	+	+>	+	90	0	8
3	*L. J.*	—	—	—	—	s.+	—	+>	+	+>	+	120	0	10
4	*Sz. B.*	—	—	—	—	+	—	+>	+	+>	+	80	0	5
5	*Sz. J.*	—	s.+	+=	+	+=	+	+=	+	+=	+	120	5	16
6	*M. Gy.*	—	—	s.+	—	+>	+	+>	+	+>	+	35	4	10
7	*D. M.*	s.+	—	s.+	s.+	+>	+	+>	+	+>	+	40	10	18
8	*Sz. J.*	—	—	—	—	s.+	—	+>	+	+>	+	40	12	25
9	*R. P.*	—	—	—	—	—	—	—	—	+>	+	20	14	26
10	*M. G.*	—	—	—	—	+	—	+>	+	+>	+	70	10	30
11	*M. J.*	—	—	—	—	s.+	—	+>	+	+=	+	50	16	36
12	*P. E.*	—	—	—	—	—	—	—	—	+>	+	25	16	26
13	*F. J.*	—	—	—	—	—	—	+>	+	+=	+	10	16	24
14	*H. J.*	—	—	—	—	s.+	—	+>	+	+>	+	40	18	45
15	*P. G.*	—	—	s.+	s.+	+=	+	+=	+	+>	+	15	20	44
16	*A. I.*	—	—	—	—	—	—	+=	+	+=	+	30	21	33
17	*K. I.*	—	—	s.+	—	+	s.+	+=	+	+=	+	50	21	30
18	*K. L.*	—	—	s.+	s.+	+>	+	+>	+	+>	+	80	25	37
19	*O. F.*	—	—	+	—	+	—	+>	+	+>	+	30	22	48
20	*V. I.*	—	—	—	—	+	—	+>	+	+>	+	40	26	36
21	*B. V.*	—	—	—	—	+	?	+=	+	+>	+	58	20	40
22	*B. A.*	—	—	s.+	—	+>	+	+>	+	+>	+	60	25	40
23	*O. S.*	—	—	—	—	—	—	—	—	+=	+	45	22	38
24	*D. M.*	—	—	s.+	s.+	+=	+	+=	+	+=	+	90	29	36
25	*H. P.*	—	—	s.+	—	+>	+	+=	+	+=	+	15	34	47
26	*M. I.*	—	—	—	—	+>	+	+>	+	+>	+	50	32	50
27	*P. V.*	—	—	—	—	+>	+	+=	+	+>	+	40	30	43
28	*Cs. I.*	—	—	—	—	+	—	+>	+	+>	+	80	33	48
29	*K. R.*	—	—	s.+	s.+	+=	+	+=	+	+=	+	30	36	47
30	*K. J.*	—	—	s.+	—	+>	+	+>	+	+=	+	40	37	62
31	*Gy. A.*	—	—	—	—	s.+	s.+	+=	+	+=	+	25	38	52
32	*G. M.*	—	—	—	—	?	?	+=	+	+=	+	40	41	50
33	*K. E.*	—	—	—	—	s.+	—	+>	+	+>	+	38	54	70
34	*S. I.*	—	—	—	—	+	—	+>	+	+>	+	20	66	82

a = HCl; b = Essigsäure
I = n/1000; II = n/500; III = n/100; IV = n/50; V = n/10.
s. bedeutet schwach.

Das Ergebnis dieser Untersuchungsreihe läßt sich hinsichtlich der Geschmacksschärfe folgendermaßen gruppieren:

Tabelle III.

	Gleich stark	HCl >	Essigsäure >	Essigs. neg.	HCl neg.	Beide neg.
n/10	12	22	—	—	—	—
n/50	12	19	—	—	—	3
n/100 . . .	6	11	—	12	—	5
n/500 . . .	6	—	—	7	1	20
n/1000 . . .	—	—	—	1	1	32

Die stärkere Wirkung der besser dissoziierten HCl-Lösung ist unverkennbar. Am besten kommt sie bei Verwendung einer n/100 Lösung zum Vorschein, bei den stärkeren Lösungen ist sie zwar ausgesprochen, aber doch nicht so stark; bei den schwächeren Lösungen wird sie aber immer undeutlicher, da kommen sogar Fälle vor, wo der saure Geschmack der Essigsäurewirkung stärker ist. Dieses Ergebnis scheint im Sinne der Auffassung von *Liljestrand* zu sprechen. Bei den sehr verdünnten Lösungen ist nämlich auch der Dissoziationsgrad der Essigsäure so fortgeschritten, daß der Unterschied gegenüber der Dissoziation der Salzsäure wesentlich kleiner wird. Die Aciditätsverhältnisse des Magens lassen auch hier keinen Zusammenhang mit der Geschmacksschärfe erkennen.

Wie entscheidend die größere potentielle Acidität die Reaktionsfähigkeit der Säurelösung beeinflußt, beobachteten wir bei der Nachprüfung der Versuche von *Rosenbaum*. Läßt man nämlich einen Tropfen Essigsäure- und Salzsäurelösung von $p_H = 3$ auf ein blaues, also alkalisches Lackmuspapier fließen, so bekommt man einen roten Kreis mit ungefähr gleichem Durchmesser; um den Kreis herum entwickelt sich aber ein feuchter Hof, welcher bei der Salzsäure blau bleibt, bei der Essigsäure dagegen rot wird. Noch schöner kann man den Unterschied demonstrieren, wenn man in eine konzentrierte alkalische Lackmuslösung die Säurelösungen von $p_H = 3$ tropfenweise hinzufügt. Von der Salzsäure muß man dann eine bedeutend größere Quantität nehmen, um dieselbe rote Farbe zu erhalten.

Unsere Untersuchungen sprechen also in dem Sinne, daß *das verschiedene Verhalten der schwachen und starken Säurelösungen beim Auslösen der Geschmacksempfindung hauptsächlich auf ihre verschiedene potentielle Acidität zurückzuführen ist.*

Über die chemische Wirkung von Lebertran und Adrenalin auf die photographische Platte.

Von

P. Niederhoff.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 29. Juli 1926.)

In Band 172 dieser Zeitschrift berichtet *H. Vollmer* über Untersuchungen, die sich mit der Einwirkung verschiedener Substanzen, z. B. Lebertran, Wasserstoffsuperoxyd usw. auf die photographische Platte beschäftigen. Die Versuche stehen im Einklang mit Erscheinungen, die bereits seit längerer Zeit bekannt und vielfach von zahlreichen Autoren behandelt worden sind. Die Literatur über diesen Gegenstand ist ziemlich zerstreut, teils in physikalischen, teils in chemischen Zeitschriften und augenscheinlich bei neuen Arbeiten über dieses Thema nicht genügend berücksichtigt; es sei daher zunächst über die bisherigen Untersuchungsergebnisse berichtet.

Die ersten Versuche über Einwirkungen von Körpern auf die photographische Platte bei *Abwesenheit* von Licht wurden, wie *W. Merkens* angibt, von *Nièpce de St. Viktor* angestellt und später von *Laborde* bestätigt. *Nièpce de St. Viktor* fand, daß bestimmtes Papier, das dem Sonnenlicht ausgesetzt war, nach langem Aufbewahren in einer licht- und luftdicht verschlossenen Blechbüchse eine photographische Schicht schwärzte, wenn man diese auf die geöffnete Büchse legte. *Colson* wies im Jahre 1890 nach, daß Aluminium- und Zinkplatten selbst auf einige Entfernungen hin in der lichtempfindlichen Schicht entwickelbare Veränderungen hervorriefen. Die ersten eingehenden Untersuchungen machte *J. W. Russell*, der seine umfangreichen Arbeiten im Jahre 1898 der Royal Institution vorlegte. *J. W. Russell* zeigte, daß verschiedene Metalle, wie Magnesium, Zink, Cadmium, Nickel, Aluminium, Blei, Wismut, Zinn und Kobalt, in absteigender Stärke die photographische Platte beeinflußten, und wies ferner nach, daß ätherische Öle, Fette, Lebertran, Holz hauptsächlich in frischerem Zustande, Harze, Terpene auf die Bromsilbergelatine einwirkten. Er zeigte auch bereits, daß die Wirksamkeit von Holz, Harzen, Ölen auf das Bromsilber durch vorherige Bestrahlung im Sonnenlicht bedeutend erhöht werden kann, und daß es speziell die kurzen Wellen sind, die die stärkere

Wirkung hervorrufen. Er gab ferner auch die Abhängigkeit der Wirkung von der Temperatur an — bei gewöhnlicher Temperatur ist der Effekt schwächer als bei 30 bis 40° — und fand, daß die Reaktion in einer CO_2-Atmosphäre nicht vor sich ging, daß vielmehr die Anwesenheit von Sauerstoff notwendig erschien.

Die Mitteilungen *Russells* gaben vielen Autoren Veranlassung, den Erscheinungen weiter nachzugehen. So griff *L. Graetz* die von *Russell* gegebene Erklärung der Wasserstoffsuperoxydbildung als des wirksamen Agens auf und befaßte sich eingehend mit der Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf die photographische Platte. *E. Foerster* stellte fest, daß speziell cellulosehaltige Körper eine wesentliche Steigerung ihrer Einwirkung auf das Bromsilber durch Bestrahlung im Sonnenlicht erfuhren. *S. Saeland* befaßte sich mit der Wirkung von Metallen und Wasserstoffsuperoxyd auf die photographische Platte. *E. van Aubel* bestätigte, daß Harze, Kolophonium, Abietinsäure, Kopalharz, Mastix und alkoholische Phenollösung die photographische Platte beeinflussen. *A. Reiss* behandelte die Einwirkung von Schwefelwasserstoff, Chlor, Eisessig, Kohlensäure, Chloroform, Terpentinöl, Benzoylchlorid auf die Bromsilbergelatine. *G. de Fontenay* wies die Wirkung von Tinte auf die lichtempfindliche Schicht nach. *A. Cingowatow* berichtete über die Einwirkung der Terpentinöldämpfe auf die photographische Platte. *W. Merkens* und *A. Kufferath* beschäftigten sich hauptsächlich mit der Wirkung der *van Aubel*schen Substanzen. *Lüppo-Cramer*, einer der besten Kenner dieses Gebiets, berichtete wiederholt über die Wirkung der genannten Substanzen auf das Bromsilber. *K. Kof* und *H. Haehn* studierten die Erzeugung von Bildern auf photographischen Platten durch Einwirkung der Dämpfe von gelöstem Quecksilberchlorid. Legt man auf ein Becherglas, das eine 0,01- bis 6proz. Lösung von Quecksilberchlorid in Wasser, Alkohol, Benzol oder Toluol enthält, über einem Glasstreifen eine photographische Platte, so erhält man nach 3 Minuten beim Entwickeln ein schwarzes Bild des Glasstreifens im weißen Felde. Es läßt sich zeigen, daß zur Erzeugung eines sichtbaren Bildes genügend ist, wenn sich pro Quadratzentimeter Fläche 0,000 000 011 g $HgCl_2$ kondensieren. Die photographische Platte kann somit zum Nachweis von Spuren von Quecksilberchlorid in dieser Weise verwendet werden. *B. T. Brooks* untersuchte den Einfluß von organischen Peroxyden, wie Benzopersäure, Acetylperoxyd und Benzoylacetylperoxyd auf die photographische Platte. Welch geringe Spuren von Wasserstoffsuperoxyd genügen, um noch einen deutlichen Eindruck auf der photographischen Platte hervorzurufen, zeigten *J. Precht* und *C. Otsuki*, indem sie die Menge auf $3 \cdot 10^{-9}$ g berechneten. In jüngster Zeit befaßten sich *Kugelmass* und *M. Quarric* und *J. C. Drummond* und *T. A. Webster* mit der Einwirkung von Lebertran auf die photographische Platte.

Wie wirken nun all die genannten Substanzen auf die Bromsilberschicht? Gehen von ihnen Strahlungen, dem Licht verwandt, aus, oder ist ihr Einfluß chemischer Natur? *Fast alle Autoren, die sich mit diesem Gegenstand befaßt haben, sehen die Ursache in einer chemischen Einwirkung dieser Substanzen auf die photographische Platte infolge Verdunsten bzw. leichten Flüchtigkeit von Bestandteilen derselben* im wesentlichen in Übereinstimmung mit der ursprünglich von *J. W. Russell* gegebenen Erklärung.

Es hat allerdings auch vereinzelt Autoren gegeben, die geglaubt haben, daß durch besondere Strahlungen die Wirkung auf die photographische Platte zustande käme. Diese Auffassung geht auf *L. Graetz* zurück, der die Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf die photographische Platte für eine Strahlung nach Art von Becquerelstrahlen hielt. Seiner Ansicht stimmte damals *O. D. Hénault* bei. Diese Hypothese löste seinerzeit besonders in physikalischen Kreisen eine große Diskussion aus, und die Versuche von *L. Graetz* wurden eingehend, unter anderen von *W. Merkens*, *J. Precht* und *C. Otsuki* und *C. Dombrowsky* nachgeprüft. Die Untersuchungen und die daran geknüpften Erörterungen im einzelnen hier zu besprechen, würde viel zu weit führen. Das Ergebnis war, daß die Ansicht von *L. Graetz* abgelehnt und die Wirkung als rein *chemischer* Natur nachgewiesen wurde. In neuester Zeit ist dann nochmals in einer Arbeit von *Kugelmass* und *Quarrie* der Gedanke aufgetaucht, daß vom Lebertran eine ultraviolette Strahlung ausgehe. Die Untersuchungen dieser Autoren sind jedoch von *J. C. Drummond* und *T. A. Webster* widerlegt worden. Man sieht also, daß alle Versuche, vermeintliche Strahlungen, die von diesen Körpern ausgehen sollen, aufzufinden, bisher gescheitert sind.

Auch die mannigfaltigen Untersuchungen von *H. Vollmer* können keine Beweise für die Existenz von Strahlen erbringen. Wenn *Vollmer* z. B. eine photographische Platte im Abstand von 5 mm Entfernung ohne eine trennende Zwischenschicht 22 Stunden über Lebertran legt, so kann man nach dem, was bisher bekannt ist, mit Wahrscheinlichkeit annehmen, daß durch flüchtige Bestandteile des Trans eine Zersetzung der Bromsilbergelatine eintritt; diese Erscheinung aber als eine Strahlung aufzufassen, liegt kein Grund vor. Dies läßt sich auch experimentell leicht bestätigen; ich habe in einer licht- und luftdicht verschlossenen Kiste eine photographische Platte über ein offenes Schälchen mit Lebertran, 5 mm von diesem entfernt, mit der Schichtseite dem Tran zugekehrt, gelegt und gleichzeitig auch ein Quarzglasschälchen, mit Lebertran gefüllt, auf die Schichtseite einer photographischen Platte gestellt. Handelt es sich um einen photochemischen Effekt, so läßt sich erwarten, daß die Platte unter dem Schälchen genau so getroffen wird, wie diejenige auf dem Schälchen; denn die Strahlen gehen nach allen Richtungen. Der Versuch lehrt aber, daß die unter dem Schälchen befindliche Platte keine Veränderung, die Platte auf dem Schälchen aber eine starke Einwirkung des Trans zu erkennen gibt. Da Lebertran keine einheitliche Substanz ist, sondern in seinen Bestandteilen Schwankungen aufweist, habe ich die Untersuchungen mit demselben Lebertran, mit dem *H. Vollmer* gearbeitet, und den er mir freundlichst zur Verfügung gestellt hat, wiederholt; sie haben das gleiche Resultat wie die ersten Versuche ergeben. Dieselben Experimente habe ich auch noch mit Phosphorlebertran und Lebertran, der zuvor 1 Stunde lang von einer Quarz-Quecksilberlampe in etwa 30 cm Abstand bestrahlt war, gemacht; eine Einwirkung auf die photographische Schicht unter dem Schälchen war nicht festzustellen. Dann habe ich in derselben

Weise Adrenalin (Suprarenin synthetic. Höchst), das *H. Vollmer* in seiner zweiten Mitteilung auch als photochemisch wirksam beschreibt, untersucht, auch mit dem gleichen Ergebnis: es war eine sehr starke Schwärzung nur auf der direkt über dem Suprarenin gelegenen Platte festzustellen, dagegen nicht auf derjenigen, die unter dem Quarzglasschälchen lag. Daß es sich nicht um eine Strahlung handeln kann, geht auch noch aus folgendem Versuch hervor. Deckt man das offene Schälchen mit Lebertran zunächst durch ein Quarzglas von 1 mm Stärke ab und legt darauf die Bromsilbergelatineplatte, so daß sie gegen die flüchtigen Bestandteile des Trans geschützt ist, so passiert in der photographischen Schicht nichts, auch nicht, wenn der Lebertran vorher 1 Stunde mit ultraviolettem Licht bestrahlt war.

Gegen die Versuche könnte man noch einwenden, daß es vielleicht Strahlen wären, die der Quarz absorbiert. Dieser Einwand ist jedoch nicht stichhaltig. Quarz absorbiert erst Strahlen unterhalb einer Wellenlänge von 180 $\mu\mu$, also von Wellenlängen, die auch von gewöhnlicher Luft bereits absorbiert werden. Da man aber in der gewöhnlichen Luftatmosphäre einen deutlichen Effekt erhält, so kann dieser nur von Strahlen mit größerer Wellenlänge als 180 $\mu\mu$ herrühren, und solche Strahlen gehen durch Quarz hindurch. Es liegt also kein Grund vor, die Einwirkungen auf die photographische Platte als Strahlungen aufzufassen.

Ebensowenig ist es berechtigt, Substanzen mit dieser Wirkung als photoaktiv oder photochemisch wirksam zu bezeichnen; diese Benennungen gelten für ganz bestimmte physikalisch-chemische Vorgänge, und es wäre irreführend, sie auf Prozesse anzuwenden, bei denen es sich gar *nicht* um *Lichtwirkung* handelt, sondern um Vorgänge rein *stofflicher* Natur.

Durch die dem ultravioletten Licht und dem Lebertran eigenen bevorzugten Stellung in der Therapie der Rachitis ist augenscheinlich neuerdings einigen Autoren der Gedanke gekommen, ob nicht die Wirksamkeit des Lebertrans bei der Rachitis auch auf eine Strahlung zu beziehen sei. Eine solche Vorstellung fände vielleicht auch in den Untersuchungen, daß Bestrahlungen mit ultraviolettem Licht der Milch antirachitische Eigenschaften verleiht, noch eine Stütze; denn an sich bestände ja immerhin eine gewisse Möglichkeit, auf diese Weise Phosphoreszenzerscheinungen bei solchen Stoffen hervorzurufen. Durch die bisherigen Untersuchungen ist es aber *nicht* gelungen, das Auftreten irgendwelcher Strahlen nachzuweisen. Und solange dieser Nachweis nicht geglückt ist, erscheint es gewagt, mit der Möglichkeit von Strahlen zu rechnen. Eine Schwärzung der photographischen Platte durch Substanzen wie Lebertran usw. kann erst dann als

photochemischer Effekt gewertet werden, wenn die Gewißheit besteht, daß die Bromsilberschicht vor der chemischen Wirkung, die solche Substanzen ausüben, geschützt ist.

Zusammenfassung.

Es wurde die Einwirkung von Lebertran verschiedener Art und von Adrenalin auf die photographische Platte untersucht.

Die Wirkungen rühren nicht von irgendwelchen Strahlen her, sondern sind rein chemischer Natur.

Die Versuche stehen in Übereinstimmung mit den seit langem bekannten Erscheinungen, daß Harze, Öle, Wasserstoffsuperoxyd und andere Stoffe eine Schwärzung der Bromsilberschicht infolge chemischer Einwirkung verursachen.

Literatur.

E. van Aubel, C. r. 1904. — *B. T. Brooks*, Ref. Chem. Centralbl. **1910**, I, 720. — *A. Cingowatow*, ebendaselbst **1907**, II, 1463. — *C. Dombrowsky*, Inaug.-Diss. Leipzig 1908. — *J. C. Drummond* und *T. A. Webster*, Nature **115**, 837, 1925. — *G. de Fontenay*, C. r. de l'Acad. d. sciences **155**, 1610, 1912. — *L. Graetz*, Ann. d. Phys. **9**, 1100, 1902. — *O. D. Hénault*, Traveaux de l'Institut Solvay 1903. — *K. Kof* und *H. Hahn*, Zeitschr. f. physik. Chem. **60**, 367. — *Kugelmass* und *M. Quarric*, Science **60**, 274, 1924. — *Lüppo-Cramer*, unter anderem Eders Handb. d. Photographie. — *W. Merkens* und *A. Kufferath*, Zeitschr. f. angew. Chem. **31**, 1904. — *J. Precht* und *C. Otsuki*, Zeitschr. f. physik. Chem. **52**, 236, 1905. — *Dieselben*, Ann. d. Phys. **16**, 890, 1905. — *A. Reiss*, Revue suisse de Photographie **15**, 6. — *J. W. Russell*, Proc. Roy. Soc. **64**, 409, 1899. — *Derselbe*, Ref. Chem. Zentralbl. **1908**, II, 1846. — *S. Saeland*, Ann. d. Phys. **26**, 899, 1908. — *H. Vollmer*, diese Zeitschr. **172**, 467, 1926. — *Derselbe*, ebendaselbst **173**, 389, 1926. — *Derselbe*, ebendaselbst **173**, 467, 1926.

Über die Verteilung der Phosphorsäure im menschlichen Blute und ihre Schwankungen bei den einzelnen Individuen[1]).

Von

Fritz Roller.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik Gießen.)

(Eingegangen am 30. Juli 1926.)

Die Phosphorsäure des Gesamtblutes ist im Gegensatz zu der des Serums bzw. des Plasmas bisher nur wenig Gegenstand der Untersuchung gewesen. Diese ist besonders durch die Arbeiten von *Feigl* (1), *Greenwald* (2), *Bloor* (3) u. a. eingehend untersucht und in ihren einzelnen Fraktionen durch zahlreiche Versuche festgelegt. Es hat sich dabei gezeigt, daß die freie anorganische Phosphorsäure des Serums innerhalb sehr großer Grenzen schwankt; und zwar werden in der Literatur Werte zwischen 3 und 18 mg-Proz. angegeben. Die Zahlen für die Gesamtphosphorsäure des Serums bewegen sich zwischen 25 und etwas über 50 mg-Proz. Zieht man von den für Gesamtphosphorsäure ermittelten Werten die der anorganischen Phosphorsäure ab, so verbleibt demnach ein ansehnlicher Rest von Phosphorsäure, die an organische Komplexe gebunden sein muß. Der weitaus größte Teil dieser organischen Phosphorsäure ist an Eiweißkörper gebunden oder in lecithinartigen Verbindungen vorhanden und ist in schwach sauren, wässerigen Flüssigkeiten unlöslich. Ein kleiner Teil der organischen Phosphorsäure verliert seine Löslichkeit durch die organische Bindung nicht. An welche organischen Körper diese Phosphorsäuregruppe sich anlagert, ist bisher unbekannt geblieben. Ein verschwindend kleiner Teil scheint an Hexosen gebunden zu sein. Ferner vermutet man Bindungen an glycerin- oder nucleinartige Substanzen. Diese, also in schwachen Säuren lösliche Fraktion der Phosphorsäure, hat

[1]) Inaugural-Dissertation Gießen 1925.

Feigl (4) als eigentliche Restphosphorsäure bezeichnet. Ihre Menge beträgt in etwa 90 Proz. aller Fälle nicht über 4 mg-Proz. Nur in Ausnahmefällen steigt sie beim Gesunden auf 6 bis 8 mg-Proz. Bei gestörter Nierenfunktion fand sie *Feigl* wesentlich vermehrt.

Die Trennung der organisch gebundenen und der freien Phosphorsäure des *Gesamtblutes* begegnete zunächst großen methodischen Schwierigkeiten, und zwar deshalb, weil sich die Phosphorsäure des Gesamtblutes ganz im Gegensatz zu der des Serums als äußerst labil erwies und infolgedessen durch die zur Bestimmung notwendigen Eingriffe fortgesetzt Übergänge organisch gebundener Phosphorsäure in anorganische Phosphorsäure beobachtet wurden. Dadurch sind die von *Feigl* (5) mitgeteilten Werte für die freie Phosphorsäure des Gesamtblutes oder der Blutkörperchen entschieden zu hoch. Nachdem man die Ursachen der methodischen Fehler erkannt und vermeiden gelernt hatte, fanden *Zucker* und *Gutmann* (6), sowie *Lawaczeck* (7), daß die Werte für freie Phosphorsäure im Serum und Gesamtblut weitgehend übereinstimmten. Über die anderen Phosphorsäurefraktionen herrscht noch wenig Klarheit. Ich habe daher in einer Reihe von Fällen die Phosphorsäureverteilung im Blute untersucht und gleichzeitig in Anbetracht der großen Schwankungen, der die freie Phosphorsäure des Blutes bei den verschiedenen Individuen unterworfen ist, die Frage geprüft, inwieweit diese Schwankungen auch bei demselben Individuum vorkommen, oder ob der Organismus stets auf den gleichen Phosphorsäurespiegel eingestellt ist.

Methodisches: Die Versuchsanordnung war folgende: Es wurden den Patienten meist in nüchternem Zustande etwa 35 bis 40 ccm Blut entnommen und zweimal je 15 ccm möglichst rasch, bevor die Gerinnung eintrat, grob mit dem Maßzylinder abgemessen und zur Bestimmung der anorganischen und gesamtlöslichen Phosphorsäurefraktionen in vorgewogene, mit je 30 ccm 3proz. HCl-Lösung beschickte Gefäße eingetragen. Gleichzeitig wurden etwa 2 bis 3 ccm Blut zur Bestimmung der gesamten Phosphorsäure und etwa je 0,5 ccm zur Bestimmung der Trockenrückstandes in Wiegegläschen gegeben und der Gerinnung überlassen. In allen Fällen wurden zwei von vornherein getrennte Bestimmungen angesetzt.

Die weitere Verarbeitung der zur Ermittlung der anorganischen und gesamtlöslichen Phosphorsäurefraktionen in 3proz. HCl-Lösung eingetragenen Blutmengen geschah folgendermaßen: Zunächst wurden die Gläschen wieder gewogen und dadurch die verwandte Blutmenge genau festgestellt, dann wurden noch 20 ccm H_2O zugefügt und nach *Schenck* enteiweißt, indem 30 ccm einer 5proz. $HgCl_2$-Lösung zugesetzt wurden. Die zweizeitige Enteiweißung nach *Schenck* ist deshalb wichtig, weil das Blut durch das Vermischen mit der schwach sauren Lösung nicht nur hämolysiert wird und dadurch die im Innern der Blutkörperchen vorhandenen Phosphorsäuremengen zum Austritt kommen, sondern auch weil dadurch die den Übergang zwischen freier und gebundener Phosphorsäure bewirkenden fermentartigen Vorgänge gehemmt werden. Ent-

eiweißt man einzeitig mit Trichloressigsäure oder anderen Agenzien, so liegt die Gefahr nahe, daß durch die sich an der Oberfläche der Blutkörperchen bildende Eiweißniederschlagsmembran der Austritt der Phosphorsäure aus dem Innern der Körperchen erschwert wird. Macht man vollends, um dieser Gefahr zu begegnen, das Blut durch Eintragen in H_2O hämolytisch, so behalten die Fermente freies Spiel, und es treten schon in sehr kurzer Zeit große Mengen organisch gebundener Phosphorsäure aus ihrer organischen Bindung in freie anorganische Phosphorsäure über, ein Umstand, der durch das Versetzen mit verdünnter HCl-Lösung sicher vermieden wird.

Die so mit Salzsäure und Sublimat enteiweißten Blutmengen blieben stets bis zum nächsten Tage stehen. Sodann wurde der Eiweißniederschlag, der gleichzeitig die Lipoide mit sich reißt, scharf abgenutscht und in das klare Filtrat zur Entfernung des Quecksilbers Schwefelwasserstoffgas eingeleitet. Der überschüssige H_2S wurde durch Durchleiten von Luft verjagt. Schließlich wurde der entstandene Quecksilbersulfidniederschlag abfiltriert. 60 ccm dieses enteiweißten und entquecksilberten Blutextraktes wurden in 200 ccm fassende Erlenmeyerkölbchen gegeben, 10 ccm oder, falls die Menge ausreichte, 15 ccm zur Bestimmung der gesamtlöslichen Phosphorsäure in Kjeldahlkölbchen gebracht und nach *Neumann* durch Hinzufügen von 2 bis 4 ccm konzentrierter H_2SO_4 und einigen Tropfen konzentrierter HNO_3 vollständig verascht. Die Veraschungsflüssigkeit wurde unter Filtration sodann in 200 ccm fassende Erlenmeyerkölbchen überführt und wieder auf ein Volumen von 60 ccm gebracht. Hierin geschah die Bestimmung in der von *Embden* (8) angegebenen Weise: Nach sorgfältiger Neutralisierung mit Ammoniak wurden 20 ccm der salpetersauren Strychnin-Molybdänlösung zugegeben und der entstandene Niederschlag der komplexen Phosphorsäure-Molybdän-Strychninverbindung in Goochtiegeln zur Wägung gebracht und auf Milligramm-Prozent Phosphorsäure umgerechnet.

Die Bestimmung der Gesamtphosphorsäure geschah so, daß das Blut mit den Wiegegläschen alsbald gewogen, sodann, ehe aus dem geronnenen Blute Serum sich abgeschieden hatte, in Verbrennungskölbchen verbracht wurde. Die Wiegegläschen wurden dann zur Feststellung des verwandten Blutgewichtes zurückgewogen. Die weitere Verarbeitung, Verbrennung und Phosphorsäurebestimmung, geschah genau in der für die gesamtlösliche Phosphorsäure angegebenen Weise. Die Ermittlung des Trockenrückstandes wurde so ausgeführt, daß das Blut zunächst vorsichtig im Trockenschrank erwärmt und dann bei etwa 105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde. Je nach der verwandten Menge genügten hierzu 3 bis 6 Stunden.

Ergebnisse.

Die gefundenen Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen niedergelegt. Betrachten wir zunächst in der Tabelle I die Werte für anorganische Phosphorsäure (Stab 1), so zeigt sich, daß diese zwischen 11,64 mg-Proz. (Versuch 1) und 19,24 mg-Proz. (Versuch 6) schwanken. Die meisten Werte liegen in der Nähe von 14 mg-Proz. Weitaus die höchsten Werte wurden bei Nierenerkrankungen mit Erscheinungen von Niereninsuffizienz beobachtet, in einem Falle bei einer chronischen Glomerulonephritis im dritten Stadium (Versuch 6), im anderen Falle bei einer malignen Sklerose (Versuch 8), obwohl gerade in diesen Fällen infolge einer sekundären Anämie

das Blut sehr verwässert war (s. Tabelle I, Stab 7). Liegen doch hier die Werte für Trockensubstanz erheblich niedriger als in allen übrigen Fällen.

Tabelle I.

Nr.	Diagnose	1 Anorganische Phosphorsäure mg-Proz.	2 Gesamte lösliche Phosphorsäure mg-Proz.	3 Gesamte Phosphorsäure mg-Proz.	4 Organische lösliche Phosphorsäure mg-Proz.	5 Unlösliche Phosphorsäure mg-Proz.	6 Gesamte organische Phosphorsäure mg-Proz.	7 Trockensubstanz Proz.
1	♂ Pneumonie	11,64	95,47	125,30	83,3	30,1	113,4	—
		12,09	94,88	122,80				—
2	♀ Neurasthenie	14,57	96,31	134,30	80,7	39,0	119,7	20,40
		14,60	94,22	132,00				21,16
3	♂ Gesund	14,67	92,14	—	77,0	—	—	23,08
		14,93	91,38	—				23,21
4	♀ Chron. Bronchitis	14,82	95,96	117,54	76,5	25,7	152,2	21,70
		15,82	87,68	116,02				
5	♀ Cholangitis	15,37	—	109,53	—	—	93,4	20,33
		16,71	—	109,29				20,42
6	♂ Chronische Glomerulonephritis	19,24	63,27	84,49	46,1	19,7	65,8	15,74
		18,01	66,28	83,67				15,52
7	♀ Myodegeneratio cordis	17,47	—	135,86	—	—	123,3	24,28
		17,12	—	140,60				24,30
8	♂ Maligne Nierensklerose	18,08	83,73	110,10	71,2	26,3	97,5	14,90
		19,15	95,82	116,20				15,27
9	♂ Gesund	15,18	82,31	114,14	70,5	28,8	99,3	
		14,53	88,34	111,30				19,84
10	♂ Kriegsneurose	17,05	97,70	121,87	80,2	24,9	105,1	22,83
		16,77	96,47	121,94				
11	♂ Mitralstenose an der Grenze d. Kompensation	15,09	90,79	120,00	76,1	28,2	104,3	20,79
		16,38	92,78	118,19				20,81
12	♂ AkuteGlomerulonephritis	16,75	74,52	106,65	55,1	35,3	90,4	19,95
		16,53	68,97	107,06				
13	♂ Herzneurose	13,88	93,79	120,34	79,9	27,2	107,1	—
		13,00	93,45	119,50				—

Ebenso große Schwankungen weisen auch die Zahlen für gesamtlösliche Phosphorsäure auf (Stab 2). Ihre Werte liegen zwischen 63,27 mg-Proz. (Versuch 6) und 97,7 mg-Proz. (Versuch 10). Sie sind damit ganz erheblich höher als die entsprechenden Werte im Serum, wo sie nur in pathologischen Fällen (Niereninsuffizienz) den Wert von etwa 20 mg-Proz. überschreiten.

Die Zahlen für die Gesamtphosphorsäure des Blutes (Stab 3) bewegen sich zwischen 83,67 mg-Proz. (Versuch 6) und 140,6 mg-Proz. (Versuch 7).

Zieht man von den Werten für gesamtlösliche Phosphorsäure (Stab 2) die der anorganischen Phosphorsäure ab (Stab 1), so erhält man die Zahlen für die organische lösliche Phosphorsäure, die sogenannte Restphosphorsäure. Sie sind in Stab 4 besonders aufgeführt. Ihre Werte schwanken zwischen 46,1 mg-Proz. bei einer chronischen Glomerulonephritis (Versuch 6) und 83,30 mg-Proz. bei einer Pneumonie (Versuch 1). Es ist auffällig, daß

diese Phosphorsäurefraktion des Gesamtblutes bei Nierenstörungen eher erniedrigt scheint — finden sich doch die beiden niedrigsten Werte bei einer chronischen Glomerulonephritis (Versuch 6) und einer akuten Glomerulonephritis (Versuch 12) (46,1 mg-Proz. bei Versuch 6 und 55,1 mg-Proz. bei Versuch 12) —, während diese Phosphorsäurefraktion im Serum bei Nephritiden fast regelmäßig erhöht gefunden wird.

In Stab 5 sind die Zahlen für die unlösliche Phosphorsäure angegeben, die sich durch Subtraktion der Werte der Gesamtphosphorsäure (Stab 3) von denen der gesamtlöslichen Phosphorsäure (Stab 2) ergeben. Sie schwanken zwischen 19,7 mg-Proz. (Versuch 6) und 35,3 mg-Proz. (Versuch 12) und dürften damit kaum höher sein als diejenigen, die von anderen für die entsprechende Phosphorsäurefraktion des Serums ermitttelt wurden.

Schließlich wurden in Stab 6 die Werte für die gesamte organische Phosphorsäure durch Addition der Zahlen in Stab 4 (organisch lösliche Phosphorsäure) und Stab 5 (unlösliche Phosphorsäure) gefunden. Ihre Werte liegen zwischen 65,8 und 123,3 mg-Proz. und überragen damit die Zahlen für anorganische Phosphorsäure um ein Vielfaches.

Um nun zu sehen, ob die bei den verschiedenen Individuen beobachteten Schwankungen auch bei dem einzelnen Individuum zur Geltung kommen, habe ich in einer Reihe von Fällen die einzelnen Phosphorsäurefraktionen an verschiedenen Tagen wiederholt geprüft. Die hierbei gewonnenen Ergebnisse sind in Tabelle II niedergelegt. Es hat sich dabei gezeigt, daß auch bei ein und derselben Person recht erhebliche Unterschiede vorkommen. So finden wir in Versuch 5 für anorganische Phosphorsäure (Stab 1) einmal 11,5 mg-Proz. (e), ein anderes Mal 13,1 mg-Proz. (b) und das dritte Mal 16,7 mg-Proz. (a). In einem anderen Falle (Versuch 10) schwanken die Werte für anorganische Phosphorsäure (Stab 1) zwischen 15,1 und 20,4 mg-Proz.

In den Versuchen 6 und 11 liegen die Werte jedoch nahe beieinander, im ersteren zwischen 18,0 und 20,6 mg-Proz., im letzteren zwischen 15,1 und 16,9 mg-Proz.

Ähnliche Verhältnisse zeigen sich auch bei den übrigen Phosphorsäurefraktionen. Man sieht auch hier große Schwankungen bei dem gleichen Individuum. So findet sich für organisch lösliche Phosphorsäure einmal 73,3 mg-Proz., ein anderes Mal 90,5 mg-Proz. (Versuch 5 b und c) und für unlösliche Phosphorsäure einmal 18,3 mg-Proz., ein zweites Mal 44,2 mg-Proz. (Versuch 9 c und b).

In den drei letzten Fällen wurde der Versuchsperson je einmal das Blut entnommen, nachdem sie bereits gefrühstückt hatte. Es zeigten sich hierbei keine charakteristischen Unterschiede.

Zum Schluß wurden in Tabelle III die Werte für anorganische Phosphorsäure, organisch lösliche und für unlösliche Phosphorsäure in Prozenten der Gesamtphosphorsäure umgerechnet. Es ergab sich dabei, daß die anorganische Phosphorsäure zwischen 9,5 Proz. (Versuch 1) und 22,1 Proz. (Versuch 6a) von der gesamten Phosphorsäure ausmacht. Den höchsten Prozentsatz der anorganischen Phosphorsäure finden wir bei Nierenstörungen (Versuche 6, 8 und 12). Es hat den Anschein, als ob das Verhältnis zwischen anorganischer und Gesamtphosphorsäure im gleichen Organismus mit größerer Konstanz festgehalten würde, liegen doch, wenn man von Versuch 5 absieht, die bei den gleichen Versuchspersonen gewonnenen Prozentzahlen ziemlich nahe beieinander.

Tabelle II.

Versuch	Datum 1924	Krankheit	1 Anorganische H_3PO_4 mg-Proz.	2 Gesamtlösliche H_3PO_4 mg-Proz.	3 Gesamte H_3PO_4 mg-Proz.	4 Organ. lösliche H_3PO_4 mg-Proz.	5 Unlösliche H_3PO_4 mg-Proz.	6 Gesamte organische H_3PO_4 mg-Proz.	7 Trockensubstanz Proz.
5a	11. XI.	♀ Cholangitis	15,37	—	109,53	—	—	—	20,33
			16,71	—	109,29	—	—	—	20,42
5b	27. XI.		13,13	103,80	137,73	90,5	33,9	124,4	20,25
			13,43		107,33				
5c	15. XII.		11,49	85,47	109,15	—	—	97,5	20,18
			11,91	84,45	111,50	—	—		20,14
6a	8. XII.	♂ Chronische Glomerolonephritis	19,24	63,27	84,49	46,1	19,7	65,8	15,74
			18,01	66,28	83,67				15,52
6b	23. XII.		18,66	73,80	92,58	55,5	17,4	72,9	16,87
			20,62	76,50	91,10				17,03
6c	5. 1925 I.		18,97	71,20	101,47	53,6	—	—	—
			20,28	75,20	102,40		—	—	—
9a	16. II.	♂ Gesund	15,18	82,31	114,14	70,5	28,8	99,3	19,84
			14,53	88,34	111,30				
9b	23. II.		13,80	86,37	123,49	72,9	44,2	117,1	22,31
			13,58	86,76	130,79				21,92
9c	5. III.		15,72	103,89	119,78	88,2	18,3	106,5	22,97
			16,58	104,89	122,65				23,07
10a	19. II.	♂ Kriegsneurose	17,05	97,70	121,87	80,2	24,9	105,1	22,83
			16,77	96,47	121,94				
10b	26. II.		20,45	115,35	141,90	94,9	25,5	121,4	22,14
			20,61	115,50	127,44				22,18
10c	9. III.		15,10	97,46	125,80	83,5	27,1	110,6	22,51
			15,25	99,87	125,46				23,58
11a	30. VI.	♂ Mitralstenose an der Grenze d. Kompensation	15,09	90,79	120,00	76,1	28,2	104,3	20,79
			16,38	92,78	118,19				20,81
11b	3. VII.		15,81	94,61	121,03	80,6	24,6	105,2	—
			15,86	98,29	120,50				—
11c	5. VII.		16,93	95,33	120,30	77,7	35,0	112,7	*)
			16,35	93,37	129,33				*)
12a	7. VII.	♂ Akute Glomerulonephritis	16,75	74,52	106,65	55,1	35,3	90,4	19,95
			16,53	68,97	107,06				
12b	11. VII.		18,83	71,76	107,10	52,4	38,2	90,6	20,24
			19,98		110,00				
12c	16. VII.		22,51	98,80	123,36	75,1	26,2	101,3	20,25*
			21,71	95,46	123,32				18,00*
13a	10. VII.	♂ Herzneurose	13,88	93,79	120,34	79,9	27,2	107,1	*)
			13,00	93,45	119,50				*)
13b	14. VII.		16,17	98,43	118,45	82,7	25,1	107,8	20,04
			15,18	63,16?	123,50				19,98
13c	17. VII.		16,84	96,17	—	79,4	—	—	—
			16,14	95,53	—		—	—	—

*) Nicht nüchtern.

Tabelle III.

In Prozenten der Gesamtphosphorsäure.

Versuch	Anorgan. Phosphorsäure	Organische lösliche Phosphorsäure	Organische unlösliche Phosphorsäure	Versuch	Anorgan. Phosphorsäure	Organische lösliche Phosphorsäure	Organische unlösliche Phosphorsäure
1	9,5	66,5	23,0	10a	13,8	65,8	20,4
2	10,5	60,1	29,0	10b	12,5	68,4	19,1
4	13,0	65,1	21,9	10c	12,1	66,4	21,5
				11a	13,1	63,4	23,5
5a	14,6	—	—	11b	13,1	66,6	20,3
5b	9,7	65,7	24,6	11c	12,8	60,1	27,1
5c	10,7	67,1	22,2	12a	15,8	51,5	32,7
6a	22,1	54,6	23,3	12b	17,7	47,6	34,7
6b	21,2	60,0	18,8	12c	17,9	60,9	21,2
6c	19,2	52,3	28,5	13a	11,0	66,4	22,6
7	12,3	—	—	13b	12,7	67,0	20,3
8	16,1	61,2	22,7				
9a	13,0	61,7	25,3				
9b	10,5	55,7	33,8				
9c	13,2	71,9	14,9				

Zusammenfassung.

1. Es wird bestätigt, daß die anorganische Phosphorsäure des Blutes denselben individuellen Schwankungen unterliegt, wie die des Serums. In vorliegendem Falle wurden Werte zwischen 11,6 und 22,5 mg-Proz. gefunden.

2. Die Zahlen für organische (lösliche und unlösliche) Phosphorsäure zeigen ebenfalls große individuelle Unterschiede.

3. Die Menge der organisch löslichen Phosphorsäure beträgt im Gesamtblut ein Vielfaches der entsprechenden Fraktion des Serums.

4. Auch bei dem gleichen Individuum werden zu verschiedenen Zeiten große Unterschiede in der absoluten Menge der einzelnen Phosphorsäurefraktionen gefunden.

5. Es hat den Anschein, als ob bei den gleichen Individuen in dem Verhältnis zwischen anorganischer und Gesamtphosphorsäure eine gewisse Konstanz vorhanden sei.

Literatur.

1) *Feigel*, diese Zeitschr. **102**, 124, 1920. — 2) *Greenwald*, Journ. of biol. Chem. **21**, 29, 1925. — 3) *Bloor*, ebendaselbst **22**, 133, 1915. — 4) *Feigel*, l. c. — 5) *Derselbe*, diese Zeitschr. **94**, 304, 1919. — 6) *Zucker* und *Gutmann*, Ref. *Rouas*, Ber. f. d. ges. Physiol. usw. **19**, 169. — 7) *Lawaczeck*, diese Zeitschr. **145**, 351, 1924. — 8) *Embden*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **113**, 138, 1921.

Über einen regelmäßigen Unterschied in der Zusammensetzung des männlichen und weiblichen Menschenblutes.

Von

A. Klisiecki.

(Aus dem medizinisch-chemischen und physiologischen Institut der Universität Lwów.)

Eingegangen am 30. Juli 1926.)

I.

Bei Versuchen, den Harnstoffgehalt im Blute und seine Schwankungen bei gleichzeitiger Untersuchung anderer Stoffe festzulegen[1]), war ich gezwungen, mir eine den gegebenen Versuchsbedingungen entsprechende Harnstoffbestimmungsmethode zu suchen, und es wurde das hier zu beschreibende Verfahren ausgearbeitet. Die allgemein heute angewandten Harnstoffbestimmungsmethoden lassen sich in einige Gruppen einteilen. Eine von ihnen bildet die gravimetrische Xanthydrolmethode von *Fosse*. *Nicloux* und *Welter*[2]) bestimmen mit Hilfe der Xanthydrolmethode den Harnstoff im Filtrat von 1 bis 0,3 ccm Blut. Die Xanthydrolreaktion von *Fosse* bildet *C. Auguste*[3]) zur nephelometrischen Messung des Harnstoffs in 0,1 ccm Blutplasma aus. Bei dieser Methode muß man mindestens 0,3 bis 0,5 ccm Blut zentrifugieren und nach Zusatz von Xanthydrol zum Blutplasma eine Stunde warten, um den Niederschlag von Dixanthylharnstoff zu erhalten, den man nephelometrisch bestimmt.

Bei Anwendung der Hypobromitmethode mißt man den aus dem Harnstoff ausgeschiedenen N_2 mit Hilfe von Ureometern verschiedener Konstruktion, oder auch mit Hilfe eines Differenzialmanometers, oder schließlich mit Hilfe des Apparats von *van Slyke*. Die durch die Apparate angegebene Gasmenge steht in Abhängigkeit von mehreren Faktoren, wie Temperatur, Druck, Spannkraft des Wasserdampfes, Löslichkeit des Gases in der Flüssigkeit des Apparates und endlich der eventuellen Entwicklung von O_2 oder auch unvollständigen oder übermäßigen Absonderung des freien N_2, was sich noch nicht genau beherrschen läßt. Die gasometrische Hypobromitmethode eignet sich bekanntlich zu wissenschaftlichen Untersuchungen nicht, wenn sie auch in der klinischen Diagnostik gute Dienste leisten mag. *Margosches* und *Rose*[4]) bestimmen den Harnstoff jodometrisch

---

[1]) *Klisiecki*, diese Zeitschr. **172**, 442, 1926.
[2]) C. r. de la Soc. de Biol. **86**, 161, 1922.
[3]) Ebendaselbst **89**, 991, 1923.
[4]) Diese Zeitschr. **136**, 119, 1923.

auf Grund der bei Reaktion verbrauchten Hypobromitmenge und *Pohorecka-Lelesz*[1]) scheidet zuerst mit Urease das Ammoniak aus dem Harnstoffe des Blutes aus, leitet ihn nach der Methode von *Gad-Andersen* im Verlaufe von einer Stunde mit Hilfe eines trockenen Luftstromes in HCl über, wirkt mit Hypobromit auf das entstandene NH_4Cl ein und bestimmt jodometrisch die Stickstoffmenge aus der verbrauchten Menge des Hypobromits.

Die Ureasemethoden bestimmen den Harnstoffgehalt entweder aus Messung des durch Ureaseeinwirkung entwickelten Kohlendioxyds, oder des Ammoniaks. In die erste Gruppe gehört die Methode von *Partos*, welcher das CO_2 im Apparat eigener Konstruktion mißt; die Methode von *Mirkin*[2]), welcher sich zu diesem Zwecke des Apparats von *van Slyke* bedient und schließlich die Methode von *v. Slyke*[3]), welcher im Apparat *v. Slyke-Neill* zuerst das CO_2 aus 0,2 ccm Blut ausscheidet, sodann mit Urease auf das Blut einwirkt und das aus dem Harnstoff entwickelte CO_2 mit Hilfe von Milchsäure aus der Flüssigkeit austreibt. Aus der Menge des erhaltenen CO_2 berechnet er den Harnstoff, indem er das Verhältnis 1 Millimol CO_2 in einem Liter Blut gleich 60 mg Harnstoff in einem Liter Blut annimmt. Die andere Gruppe schließt an die heute schon klassische Methode von *v. Slyke* und *Cullen*[4]) an, der von *Folin* und *Wu* vielleicht die bequemste Form der Ausführung gegeben worden ist: Austreibung des Ammoniaks — nach Fermentation des Harnstoffs mit Urease — und Titration oder kolorimetrische Bestimmung. In der Literatur der letzten Jahre finden wir eine sehr große Zahl von Modifikationen dieser Methode. Die von *Bahlmann*[5]) beschriebene besteht darin, daß man mit Hilfe von Urease das U^+ in 0,2 ccm Blut zerlegt, das erhaltene NH_3 zum n/200 HCl überleitet und den Stickstoff jodometrisch bestimmt. *Steinfield*[6]) fügt zu 0,2 ccm Blut Urease hinzu, enteiweißt die Mischung und bestimmt in 1 ccm des Filtrats das Ammoniak kolorimetrisch. *Kleiner*[7]) verfährt in ähnlicher Weise, indem er den Harnstoff in 0,2 ccm Blut mit Urease zersetzt und nach der Enteiweißung den Stickstoff mit Hilfe eines Mikrokolorimeters in 0,2 ccm des Filtrats bestimmt. *Hindmarsh* und *Priestley*[8]) nahmen zur Untersuchung 0,1 ccm Blut; das mit Hilfe von Urease ausgeschiedene NH_3 leiten sie durch einen Luftstrom in einen Behälter über und bestimmen kolorimetrisch das Ammoniak. *Rehberg*[9]) machte einen analogen Versuch, wobei er sich an Stelle des Kolorimeters der Titration mit einer Mikrobürette und n/30 NaOH bediente. *Archer* und *Robb*[10]) enteiweißen 0,2 ccm Blut nach beendeter Ureasewirkung, zentrifugieren den Niederschlag ab und nesslerisieren 5 ccm der Flüssigkeit. *Paterson*[11]) benutzt zur Unter-

[1]) Bull. de la Soc. de Chim. Biol. **7**. S. 1038, 1925.
[2]) Zit. aus Ber. über d. ges. Physiol. **17**, 195, 1923.
[3]) Ebendaselbst **33**, 879, 1926.
[4]) Journ. of biol. Chem. **19**, 211, 1914.
[5]) Zit. aus Ber. über d. ges. Physiol. **1**, 54, 1920.
[6]) Ebendaselbst **4**, 247, 1921.
[7]) Zit. aus Ber. über d. ges. Physiol. **14**, 239, 1922.
[8]) Biochem. Journ. **18**, 252, 1924.
[9]) Ebendaselbst **19**, 278, 1925.
[10]) Zit. aus Ber. über d. ges. Physiol. **33**, 150, 1926.
[11]) Biochem. Journ. **19**, 601, 1925.

suchung 0,2 bis 0,5 ccm Blut, zerlegt den Harnstoff mit Hilfe von Urease, leitet das NH_3 in n/100 H_2SO_4 über und bedient sich der Titration mit Benutzung von n NaOH. *Clark* und *Collip*[1]) zerlegen den Harnstoff — nach *Folin* und *Wu* — im Autoklaven in 5 ccm Filtrats, in 150° C mit Hilfe 1 ccm des n HCl. Darauf destillieren sie das NH_3 im Apparat von *Parnas* und *Wagner* und bedienen sich zur Bestimmung der Maßanalyse unter Benutzung von n/100 NaOH.

II.

Ich habe nun versucht, ein Verfahren auszuarbeiten, welches eine ***schnelle*** Bestimmung von Harnstoff in ***kleinen*** Blutmengen ermöglichen würde: ich bin dabei von der — bereits von *Hindmarsh* und *Priestley* angewandten — fermentativen Zersetzung des Harnstoffs durch Urease ***im nicht enteiweißten*** Blute ausgegangen[2]) und habe zur Bestimmung des Ammoniaks die im hiesigen Laboratorium entwickelten Methoden der Destillation des — ebenfalls nicht enteiweißten — Blutes im Vakuum[3]) angewandt.

Um mich zu überzeugen, ob die Bestimmung des Harnstoffgehalts in demselben Blute vor und nach der Enteiweißung (Methode *Folin-Wu*) bei Anwendung der weiter unten angegebenen Ureasemethode dieselben Resultate ergibt, habe ich selbst eine Reihe von Versuchen angestellt, von denen ich hier einige zitiere:

Tabelle I.

Blut Nr.	Normales Blut ccm	N mg	U·N in 100 ccm normalen Blutes mg	Filtrat vom enteiw. Blut ccm	N mg	U·N in 100 ccm normalen Blutes mg
1	0,15	0,034	20,4	1,5	0,0344	20,64
2	0,2	0,0186	9,3	2,0	0,0186	9,3
3	0,2	0,0249	12,45	2,0	0,0246	12,3

Danach scheint die Enteiweißung bei Harnstoffbestimmungen an frischem Blut überflüssig. Das Blut messe ich mit einer Pipette[4]), die mit einer Teilung bei 0,2, 0,1, 0,04 und 0,02 ccm versehen ist, ab. Die in Tabelle II angeführten Zahlen ergeben, daß man sogar in einer Blutmenge von 0,02 ccm den Harnstoffgehalt bestimmen kann.

---

[1]) Journ. of biol. Chem. **67**, 621, 1926.

[2]) Vgl. auch *P. Cristol*, der im genuinen Blute Urease einwirken läßt, dann enteiweißt und im Filtrat das Ammoniak bestimmt.

[3]) *Parnas* und *Heller*, diese Zeitschr. **152**, 1, 1924.

[4]) Kapillare Mischpipette nach *Landsberg*, E. Leitz, Berlin.

Tabelle II.

Blut Nr.	Blut ccm	N mg	N-U in 100 ccm Blut mg
1	0,02	0,0034	17,5
	0,04	0,0070—0,0072	17,5—18
	0,1	0,0176	17,3
	0,2	0,0344	17,2
2	0,02	0,00285	14,25
	0,04	0,005	12,5
	0,1	0,0128	12,8
	0,2	0,0258	12,9

Die Tabelle III zeigt, daß man auch kleine bekannte N-Mengen in der Harnstofflösung im ganzen vorfinden kann, wenn man die Untersuchung in der weiter unten durch mich angegebenen Weise führt.

Tabelle III.

N in U^+-Lösung mg	Gefundenes N mg
0,0046	0,00445 und 0,0045
0,0186	0,0186 „ 0,176

In Tabelle IV habe ich die Mengen von U^+-N zusammengestellt, die ich nach dem Hinzufügen von bekannten U^+-N-Mengen in dem Blute fand, in dem ich vorher schon die in 0,1 ccm vorhandene U^+-N-Menge bestimmt hatte.

Tabelle IV.

Blut Nr.	U^+-N in 0,1 ccm Blut mg	U^+-N hinzugefügt mg	Summe U^+-N im Blute	Vorgefundenes U^+-N mg	U^+-N im Blute mg
1	0,0084	0,0046	0,013	0,01305	0,00845
2	0,00825	0,0046	0,01285	0,0129	0,00835

III.

Das aus dem Finger oder aus der Ader entnommene Blut sammelte ich in einem kleinen Reagenzglas, dessen Wände mit Lithiumoxalat bedeckt waren. Nach genauer Vermengung nehme ich ein genaues Maß mit einer vollkommen trockenen Pipette von *E. Leitz*, wobei ich das Blut ein ganz klein wenig bis über die entsprechende Teilung ziehe. Bei wagerechter Haltung der Pipette reinige ich ihr Ende mit einem stickstofffreien Filter und entferne das kleine Übermaß des angesogenen Blutes.

Das so abgemessene Blut bringe ich in ein Reagenzglas, in dem sich destilliertes Wasser (1 bis 2 ccm) befindet, wobei ich die Pipette zwei- bis dreimal mit dem Wasser durchspüle, darauf achtend, daß die Flüssigkeit möglichst nur den Skalastrich erreicht, bis zu dem das abgemessene Blut gereicht hatte. Das Bespülen der Wände der Pipette, die dem abgemessenen Blute nicht zubehören, zieht nämlich Fehler nach sich. Durch Schütteln des Reagenzglases führe ich die Hämolyse herbei, füge einen Tropfen einer Pufferlösung[1]) sowie eine gewisse Menge trockener Urease[2]) „Arleo" hinzu, und bringe das Ganze dann auf 10 Minuten im Wasserbad oder Brutschrank bei einer Temperatur von 38 bis 40° C unter. Nach 10 Minuten[3]) gieße ich das Blut in den Destillations-Vakuumapparat nach *Parnas* und *Heller*[4]). Das Reagenzglas spüle ich genau zur Beseitigung der Blutreste mit destilliertem Wasser aus. Nachdem das nötige Vakuum im Apparat entstanden war, destilliere ich in die Vorlage mit 3 Tropfen n/10 HCl in einer Temperatur von 30° C und erhalte nach Verlauf von 4 bis 5 Minuten 8 ccm Destillats mit dem vollen NH_3-Stickstoffgehalt. Nach beendeter Destillation füge ich dem Destillat 0,5 ccm *Nessler*schen Reagens bei, gieße in den Zylinder des Wolffkolorimeters, wobei ich die Reste der Flüssigkeit mit destilliertem Wasser nachspüle, und fülle bis zum Skalastrich 100 nach. Die Standardflüssigkeit[5]) in dem zweiten Zylinder des Kolorimeters enthält stets etwas mehr Stickstoff als das Destillat. Jetzt vergleiche ich beide Flüssigkeiten im Kolorimeter. Ich habe die kolorimetrische Bestimmung des Ammoniakstickstoffs der acidimetrischen und jodometrischen — nach dem Vorgang von *Folin* und *Denis* — in Anbetracht der geringen zu bestimmenden Menge vorgezogen. Bei Harnstoffbestimmungen in 0,1 ccm Blut kann auch die von *Pokorecka-Leslesz*[6]) empfohlene jodometrische Hypobromitmethode versagen, denn wie die Verfasserin selbst angibt, kann man mit Hilfe dieser Methode 0,036 mg N gut bestimmen, eine ziemlich große Menge, die man in 0,1 ccm nur bei stark pathologischem Blute findet. Bei der Beschreibung der Verfasserin, die sich auf die Bestimmung von Harnstoff

---

[1]) 140 g Natr. pyrophosphor. und 20 g glasige Phosphorsäure in 100 ccm.

[2]) 2 mg (mit dem dem *Buerker*schen Kolorimeter beigefügten Hornlöffelchen).

[3]) Manchmal nach einigen Stunden, je nach meiner sonstigen Beschäftigung.

[4]) Diese Zeitschr. 152, 1, 1924.

[5]) Zu 3 Tropfen n/10 HCl füge ich eine Lösung des schwefelsauren Ammoniumsalzes (0,4715 g in 1000 ccm) hinzu, welche in 1 ccm 0,01 mg N enthält; oder fünfmal schwächere, die in 1 ccm 0,002 mg N enthält.

[6]) Bull. de la Soc. de Chim. Biol. 7, 1038, 1925.

in 0,1 ccm Blut bezieht, finden wir keine Bestimmung am Blute angeführt, sondern lediglich an Harnstofflösungen, und zwar an Mengen von 0,0146 mg N. In meinen Analysen fand ich oft in 0,1 ccm Blut 0,008 bis 0,0068 mg N. Bei solchen Mengen hat die Kolorimetrie vor der Maßanalyse bedeutende Vorteile[1]).

Die so bestimmte Stickstoffmenge ergibt die Summe des N des Harnstoffs und des Ammoniaks im Blute. Die Menge des N-NH_3 in 100 ccm kreisenden Blutes beträgt von 0,02 bis 0,04 mg, nach 24 Stunden in einer Temperatur von 39° C erreicht sie in vitro 2 mg-Proz. Bestimmt man die Summe des Stickstoffs dieser beiden Körper sogleich nach der Blutentnahme, so ist sie identisch mit der Summe des N desselben Blutes, das nach einiger Zeit untersucht wird, ja sogar nach 24 Stunden, trotz der fortschreitenden Ammoniakbildung im Blute. Auf die Zahl also, die die Menge des U^+-N darstellt, hat die von der Blutentnahme bis zur Durchführung der Analyse verflossene Zeit keinen Einfluß, z. B.:

0,2 ccm enthielten bei sofortiger Untersuchung . .	10,05	mg-Proz.
nach 24 Stunden	10,00	„
0,1 ccm enthielt bei sofortiger Untersuchung . . .	9,84	„
nach 24 Stunden	9,9	„

Wenn man verhindert sein sollte, das Blut sogleich nach der Entnahme mit der Pipette abzumessen und es sogleich in dem Reagenzglas mit destilliertem Wasser unterzubringen (wo man es ohne Sorge lange Zeit bis zur weiteren Behandlung hinterlassen kann), ist es notwendig, das Blut zum Schutze gegen die Verdampfung mit einer Schicht flüssigen Paraffins zu bedecken. Der Unterschied der Stickstoffmenge im frischen Blute und einem solchen, das durch Verdampfung eine bestimmte Wassermenge eingebüßt hat, kann 2 auch 3 mg-Proz. zum Vorteil des verdickten Blutes betragen.

Wenn man auf diese Weise verfährt, kann man sogar geringe Unterschiede in der Harnstoffmenge im Blute, das man während des Versuchs verschiedenen Stellen seines Kreislaufs entnommen hat, beobachten. Auch können hierbei beobachtete unbedeutende Schwankungen des Harnstoffgehalts im Blute unter dem Einfluß verschiedener Faktoren als sicher und tatsächlich angesprochen werden, denn der Verlust an Stickstoff ist ausgeschlossen, sobald man das Blut genau abmißt, es so destilliert, daß die Kontrolle rein ist, und den Inhalt der Vorlage in das Kolorimeter quantitativ herüberschafft, was alles sehr leicht durchführbar ist. Was also die Harnstoffbestimmungsmethode

[1]) *Parnas* und *Taubenhaus*, diese Zeitschr. **159**, 298, 1925.

anbetrifft, so bin ich *Hindmarsh* und *Priestley*[1]) gefolgt, indem ich die Enteiweißung des Blutes wegließ, mich dagegen der Vakuumdestillation und der Kolorimetrie zugewandt habe, die in diesem Falle sehr gute Dienste leistet.

IV.

Die Vielfältigkeit der Bestimmungsmethoden des Harnstoffs im Blute hat zur Folge, daß man aus der Literatur keine festen Grenzen entnehmen kann, welche die Harnstoffmengen in sich fassen, die normalen Menschen mit einem dem Alter und dem Geschlecht entsprechenden Stoffwechsel eigen ist, ebenso wie auch ein bestimmtes Maximum, über das hinausreichende Harnstoffmengen im Blute als Zeichen einer Störung im Stoffwechsel angesehen werden könnten, nicht sicher feststeht. Die durch die Autoren als normal angesprochenen U^+-N-Mengen im Blute überschreiten nach anderen weit die Grenze des Pathologischen. So findet *Bahlmann*[2]) 18,3 bis 38,5 mg-Proz. N; *Biscons* und *Rouzaud*[3]) bei Menschen im Alter von 21 bis 28 Jahren bei nüchternem Magen 31 bis 40 mg-Proz. N; nach dem Mittagessen in 3 bis 4 Stunden 42 bis 53 mg-Proz. N. *Myers*[4]) bezeichnet eine U^+-N-Menge von 12 bis 15 mg-Proz. als normal, während er schon 20 mg-Proz. als pathologisch ansieht. *Wilmanns*[5]) findet beim Säugling 36 bis 41 mg-Proz.; *Williams*[6]) bei Frauen 27,2 mg-Proz.; *Stander*[7]) bei Frauen 18 mg-Proz. *Clark* und *Collip*[8]) finden im menschlichen Blute 19,3 mg-Proz. *Yoshisada* und *Kotaro*[9]) bei Nephritis interstitialis 20 und während der Schwangerschaft 9 mg-Proz. *Hindmarsh* und *Priestley*[10]) finden im Blute gesunder junger Männer und Frauen U^+-N in den Grenzen zwischen 16,8 bis 8,7 mg-Proz. *Rehberg*[11]) dagegen zwischen 18,8 bis 21,5 mg-Proz. *De Wesselow*[12]) gibt in seinem sehr wohlüberlegten, gründlichen Buch über Blutchemie nach *Folin* an, daß der Nüchternwert für Harnstoff bei gesunden jungen Männern 25 mg in 100 ccm — also 11,7 mg-Proz. U^+-N — beträgt, mit äußersten Schwankungen von 19 bis 32 mg Harnstoff: unter physiologischen Bedingungen

---

[1]) Biochem. Journ. **18**, 252, 1924.
[2]) Zit. aus Ber. über d. ges. Physiol. **1**, 54, 1920.
[3]) C. r. Soc. Biol. **4**, 81, 1921.
[4]) Zit. aus Ber. über d. ges. Physiol. **4**, 81, 1921.
[5]) Ebendaselbst **9**, 83, 1922.
[6]) Journ. of Physiol. **57**, 51, 1923.
[7]) Zit. aus Ber. über d. ges. Physiol. **28**, 83, 1924.
[8]) Journ. of biol. Chem. **67**, 621, 1926.
[9]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **143**, 318, 1924.
[10]) Biochem. Journ. **18**, 252, 1924.
[11]) Ebendaselbst **19**, 278, 1925.
[12]) Chemistry of Blood, London, 1924, S. 20.

mögen darüber hinaus nach Eiweißaufnahme Zunahmen von einigen Milligrammen in 100 ccm auftreten. *De Wesselow* bemerkt, daß noch größere Schwankungen ohne jegliche Nierenstörung von dem Eiweißstoffwechsel abhängen können: man könne, nach *Addis* und *Watanabe*, den Harnstoffgehalt normaler Individuen auf 12 mg in 100 ccm durch geringe Eiweißzufuhr bringen, oder durch stickstoffreiche Diät bis auf 50 mg treiben. In der Schwangerschaft falle der Harnstoffgehalt, infolge der Entziehung von Eiweißbestandteilen durch den Fötus, unterhalb 20 mg-Proz. Nach *de Wesselow* müsse man einen Harnstoffgehalt von über 40 mg-Proz. als anomal ansehen, da Diäten, die ein solches Harnstoffniveau bei normaler Ausscheidung bewirken würden, selten vorkommen: ein Gehalt unterhalb 20 mg-Proz. weise lediglich auf einen geringen Eiweißumsatz hin, und in keiner Weise auf eine Stoffwechselstörung.

Ich bediente mich der oben angegebenen Harnstoffbestimmungsmethode bei Blutuntersuchungen, die ich sowohl bei Frauen wie Männern durchführte. Die erhaltenen Werte sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt:

Bei 12 Frauen von 15 enthielten 100 ccm Blut 6,24 bis 10,05 mg U^+-N. Bei dreien überschritt die U^+-N-Menge die obere Grenze und betrug 12,3, 12,9 und 11,25 mg. Eine von ihnen war im siebenten Monat der Schwangerschaft, die zweite war 7 Tage nach der Entbindung, und die dritte hat Oophoritis durchgemacht. Eine genauere Untersuchung wird ergeben, ob es sich hier nur um eine Verschiebung der Grenze des U^+-N oder auch um krankhafte Zustände handelt. Bei 25 Untersuchten männlichen Geschlechts im Alter von 19 bis 25 Jahren betrug die niedrigste U^+-N-Menge in 100 ccm Blut 10,8, die höchste 17,6 mg.

Andere Bestandteile des Blutes und der Harn wurden nicht untersucht. Die obige Zusammenstellung zeugt davon, daß in bezug auf den Harnstoffgehalt deutliche vom Geschlecht abhängige Unterschiede bestehen, wobei jedoch das Körpergewicht keine Rolle spielt, da man bei Personen von kleinem Körpergewicht große Mengen Harnstoff antrifft und umgekehrt (z. B. Blut Nr. 9, 4, 18). Die Geschlechtsdrüsen üben ihren Einfluß auf andere Drüsen und indirekt durch sie auf den Stoffwechsel aus: besonders untersteht diesem Einfluß der Eiweißumsatz, wie das die Versuche von *Boguslawsky* und *Korontchevsky*[1]) beweisen, die bei Hunden nach der intravenösen Injektion eines Hoden und Prostataemulsion einen höheren Eiweißumsatz festgestellt haben. Da unter den Frauen Übergangstypen vom urweiblichen bis zum fast

[1]) C. r. Soc. Biol. 1920, S. 718.

Nr.	Name	Alter Jahre	Körpergewicht kg	U-N mg-Proz.	Blut entnommen aus	Bemerkungen
				Frauen.		
1	*H.*	20	61	6,24	der Vene	Stud. med.
2	*H.*	—	—	6,60	dem Finger	9 Monate Schwangerschaft
3	*C.*	20	—	7,80	„ „	Stud. phil.
4	*K.*	—	—	8,25	der Vene	einer Schwangeren
5	*W.*	21	—	8,28	dem Finger	Stud. med.
6	*Z.*	25	60	8,82	der Vene	„ „
7	*G.*	—	—	8,85	„ „	8 Tage nach Entbindung
8	*S.*	—	—	8,85	„ „	einer Schwangeren
9	*L.*	19	50	8,92	„ „	Stud. med.
10	*U.*	24	48	9,30	„ „	„ phil.
11	*L.*	21	58	9,60	„ „	„ med.
12	*K.*	20	—	10,05	„ „	„ phil.
13	*K.*	—	—	11,25	dem Finger	7 Monate Schwangerschaft
14	*L.*	21	54	12,30	der Vene	Vor 2 Jahren beiderseitige Oophoritis durchgemacht
15	*J.*	—	—	12,90	„ „	7 Tage nach Entbindung
				Männer.		
1	*M.*	23	72	10,80		Stud. phil.
2	*T.*	21	58	10,99		
3	*D.*	19	63	11,00		
4	*J.*	22	59	11,38		
5	*Z.*	21	67	11,48		
		7 Tage später		11,25		
6	*L.*	22	66	11,52		
7	*P.*	22	56	11,60		
8	*S.*	21	69	11,65		
9	*S.*	21	60	12,09		Stud. med.
10	*L.*	20	73	12,60		
11	*R.*	21	65	12,63		
12	*W.*	19	56	13,32		
13	*D.*	19	65	13,65	der Vene	
14	*R.*	21	65	13,78		
15	*W.*	20	63	14,15		
16	*A.*	19	55	14,19		
17	*O.*	21	76	14,90		
18	*G.*	20	70	15,20		Stud. phil.
19	*U.*	—	—	15,50		„ med.
20	*O.*	23	60	16,10		„ „
21	*S.*	23	65	16,25		„ „
22	*J.*	22	64	17,60		„ phil.
23	*P.*	26	58	17,90		„ med.
24	*P.*	19	74	16,11		„ phil.
25	*B.*	21	86	17,90		„ „

männlichen vorkommen, so kann vielleicht die verschiedene Andeutung der Geschlechtsmerkmale sich auch in der verschiedenen Intensität des Stoffwechsels äußern, und der individuelle Eiweißumsatz, auf den die Geschlechtsdrüsen direkt oder indirekt ihren Einfluß ausüben, findet dann seinen Ausdruck in dem entsprechenden Harnstoffgehalt des Blutes. (Blut Nr. 5 hat nach 7 Tagen dieselbe U^+-N-Menge.)

Folin und *Berglund*[1]) haben die direkte Abhängigkeit der Harnstoffmenge im Blute von den Aminosäuren bewiesen. Nach einer reichlichen Nahrung, die aus Milch, Eiern, Butter und Kaffee bestand, stellten sie im Blute der Untersuchten einen Zuwachs der Aminosäuren fest, der sich $5\frac{1}{2}$ Stunden lang unterhielt, während die Harnstoffmenge 3 Stunden nach der Mahlzeit zunahm, und nach weiteren 3 Stunden zum vorherigen Stande zurückkehrte. Sie stellten weiter fest, daß unter diesen Umständen die Aminosäuren durch die Niere im Verlauf von 5 Stunden in mehrmals größerer Menge ausgeschieden werden. Während des Hungerns ist das Niveau der Aminosäuren dagegen so, wie unter normalen Verhältnissen. Diese Autoren machen auch darauf aufmerksam, daß die durch die Eingeweide absorbierten Aminosäuren durch die Leber gehen und mit dem Blute zu den Geweben, die gleich der Leber die Eigenschaft besitzen, Aminosäuren aufzunehmen. *Rosenbaum*[2]) machte bei Kaninchen intravenöse Leucininjektionen und fand im Blute keine Vermehrung der Aminosäuren. Ebendasselbe beobachtete er bei Säuglingen und erwachsenen Leuten mit gesunder Leber nach intravenösen Injektionen. Die Versuche der obigen Autoren stellen fest, daß 1. die Leber und die Gewebe leicht größere Mengen von Aminosäuren aus dem Blute absorbieren können; 2. daß das Übermaß an Aminosäuren durch die Niere ausgeschieden wird; 3. die Vermehrung der Aminosäuren im Blute eine Vermehrung der Harnstoffmenge nach sich zieht. Daß *Folin* und *Berglund* eine Zunahme der Aminosäuren und des Harnstoffs nach der Nahrungsaufnahme beobachtet haben, während *Rosenbaum* das nach einer intravenösen Injektion von Aminosäuren nicht beobachtete, kann man mit einer langsamen, reichlichen Resorption von Aminosäuren aus dem Verdauungskanal während mehrstündiger Verdauungszeit erklären. In den oben angegebenen Versuchen habe ich das Blut 4 bis 5 Stunden nach einem leicht verdaulichem Frühstück — Kaffee, Brot, Butter — das vorwiegend aus Kohlehydraten bestand, entnommen. Inwieweit die eingenommene Nahrung einen Einfluß auf die Zunahme der individuellen Harnstoffmenge im Blute der Untersuchten ausgeübt hat, werden auf Grund der angegebenen Tatsachen (1, 2, 3) weitere Versuche beweisen.

---

[1]) Journ. of biol. Chem. **51**, 395, 1922.
[2]) Zit. aus Ber. über d. ges. Physiol. **28**, 106, 1924.

Ebenso wie die U^+-Menge von den Rassenunterschieden[1]) abhängig sein soll, scheinen auch die Unterschiede bei derselben Rasse zwischen den männlichen und weiblichen normalen Individuen zu erkennen zu sein. Ähnliche Normalwerte und Geschlechtsunterschiede im Blutharnstoffgehalt habe ich auch an Tieren, Hund und Kaninchen, beobachtet.

---

[1]) Nach *Godam* haben die in den Tropen wohnhaften Europäer mehr U^+ im Blute als die Autochthonen; *Read* und *Wang* haben festgestellt, daß die Chinesen zwei- bis dreimal mehr Ammoniakstickstoff im Harn ausscheiden wie die Europäer, was sie mit der Ernährungsweise und den Rassenunterschieden begründen. *Radsma* und *Goelam* fanden bei jungen Europäern in den Tropen 32,1 mg Reststickstoff, bei den Eingeborenen dagegen nur 23,1 mg.

Autorenverzeichnis.

Alpern, D. und *L. Lindenbaum.* Das Stickstoffgleichgewicht im Sekret bei einigen normalen und pathologischen Verhältnissen der Drüseninnervation. S. 62.

Alsterberg, Gustaf u. *Artur Håkansson.* Über Manoiloffs Reaktionen und die Möglichkeit, mit Hilfe dieser das Geschlecht zu bestimmen. S. 251.

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 98. Über den respiratorischen Stoffwechsel des kohlehydratarmen Tieres. Von *T. Okumura.* S. 291.

— Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 99. Über die Wechselwirkung von Schilddrüse und Insulin. Von *T. Okumura.* S. 325.

— Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 100. Fortgesetzte Untersuchungen über die Funktion der Milz als eines Organs des Eisenstoffwechsels. Von *N. Scheinfinkel.* S. 341.

Baráth, Eugen und *Josef Vándorfy.* Experimentelle Untersuchungen über die physikalisch-chemischen Grundlagen der Geschmacksempfindung nach Säurelösungen. S. 473.

Boas, Friedrich. Beiträge zur Hylergographie. (Über die Wirkung von Salzen, namentlich Neutralsalzen, auf die Zelle.) S. 349.

Doby, G. und *R. P. Hibbard.* Verhalten, insbesondere Ionenaktivierung von Pflanzenenzymen in Abhängigkeit von der Ernährung. I. Mitteilung: Über die Amylase kalihungriger Zuckerrüben. S. 165.

Ege, Rich. und *Vald. Henriques.* Untersuchungen über die Bedeutung der Blutreaktion für die Lungenventilation. S. 441.

Falkenhausen, Frhr. *M. v.* s. *Hans J. Fuchs.*

Flatow, L. Titrationsverfahren zur Bestimmung der Blutharnsäure. S. 178.

Fuchs, Hans J. Zwei verbesserte Apparate zur Mikrostickstoffbestimmung. S. 32.

Fuchs, Hans J. und Frhr. *M. v. Falkenhausen.* Über proteolytische Fermente im Serum. III. Mitteilung: Über eine chemisch meßbare Toxin-Antitoxin-Bindung in vitro. S. 92.

Gaedertz, Alma s. *Anneliese Wittgenstein.*

Galwialo, M. J., G. E. Wladimirow, A. P. Winogradow und *W. W. Oppel.* Zur Frage nach dem Chemismus der Manoilowschen Reaktion und ihrer Spezifität. S. 189.

Grafe, V. und *H. Magistris.* Zur Chemie und Physiologie der Pflanzenphosphatide. III. Mitteilung: Die wasserlöslichen und wasserunlöslichen Phosphatide aus Pisum arvense unicolor. (Möystad, gelbgrüne Erbse, Ernte 1925.) S. 266.

Håkansson, Artur s. *Gustaf Alsterberg.*

Hennichs, Samuel. Nachtrag zu meiner Arbeit: Zur Kenntnis der Katalase und ihrer Beziehung zu biologischen Oxydationen. S. 155.

Henriques, Vald. s. *Rich. Ege.*

Heubner, W. und *R. Meyer-Bisch.* Über den Sulfatgehalt im Blutserum und Kammerwasser. S. 184.

Hibbard, R. P. s. *G. Doby.*

Klein, G. und *K. Pirschle.* Quantitative Untersuchungen über die Verwertbarkeit verschiedener Stoffe für die Pflanzenatmung. S. 20.

Klisiecki, A. Über einen regelmäßigen Unterschied in der Zusammensetzung des männlichen und weiblichen Menschenblutes. S. 490.

Kolthoff, J. M. Der Kohlensäuregehalt von destilliertem Wasser und dessen genaue Bestimmung. S. 101.

Komarow, S. A. s. *R. Krimberg.*

Krimberg, R. und *S. A. Komarow.* Über den Einfluß des Carnosins auf die Sekretionsarbeit der Magendrüsen. S. 467.

— — Über die Einwirkung des Methylguanidins auf die Absonderung des Pankreassaftes und der Galle. S. 73.

László, Daniel s. *Fritz Lieben.*

Lieben, Fritz und *Daniel László.* Über die Beziehungen des Kreatins zum Eiweiß- und Kohlehydratstoffwechsel. S. 403.

Lindenbaum, L. s. *D. Alpern.*

Lunde, Gulbrand. Beiträge zur quantitativen, organischen Mikroanalyse. S. 157.

Magistris, H. s. *V. Grafe.*

Meiersdorf, Elsa. Zur Kenntnis der Eiweißkörper des Ovariums. S. 127.

Meyer-Bisch, R. s. *W. Heubner.*

Niederhoff, P. Über die chemische Wirkung von Lebertran und Adrenalin auf die photographische Platte. S. 478.

Okumura, T. s. *Leon Asher.*

Oppel, W. W. s. *M. J. Galvialo.*

Perewosskaja, N. O. s. *A. A. Schmidt.*

Pirschle, K. s. *G. Klein.*

Roest, J. Die Oxydationskatalyse durch Adrenalin. S. 17.

Roller, Fritz. Über die Verteilung der Phosphorsäure im menschlichen Blute und ihre Schwankungen bei den einzelnen Individuen. S. 483.

Sabalitschka, Th. Über die Ernährung von Pflanzen mit Aldehyden. VII. Mitteilung: Erhöhung des Kohlehydratgehaltes von Elodea canadensis durch Acetaldehyd. Von *Th. Sabalitschka* und *H. Weidling.* S. 210.

Sabry, Mohammed Mustafa. Über Eiweißsubstanzen der Lymphdrüse und Nebenniere. S. 109.

Scheinfinkel, N. s. *Leon Asher.*

Schmidt, A. A. und *N. O. Perewosskaja.* Physiologisch-chemische Begründung der Manoilowschen Reaktion. S. 198.

Seekles, L. s. *B. Sjollema.*

Serebrijski, J. s. *H. Vollmer.*

Sjollema, B. und *L. Seekles.* Über die Zuckerbildung aus dem Methylglyoxal im normalen Tierkörper. Beitrag zur Kenntnis der toxischen Eigenschaften des Methylglyoxals und Methylglyoxalacetats. S. 431.

Stoklasa, Julius. Die physiologische Funktion des Jods beim Bau- und Betriebsstoffwechsel in der chlorophyllhaltigen und chlorophyllosen Zelle. S. 38.

Vándorfy, Josef s. *Eugen Baráth.*

Vollmer, H. und *J. Serebrijski.* Photoaktivitätsstudien. V. Mitteilung: Die Beziehungen zwischen photographischer und antirachitischer Wirksamkeit. S. 84.

Waltner, K. Über die Wirkung wiederholter Insulingaben. S. 246.

Weidling, H. s. *Th. Sabalitschka.*

Winogradow, A. P. s. *M. J. Galvialo.*

Wittgenstein, Anneliese und *Alma Gaedertz.* Über den Milchsäuregehalt des Kammerwassers. Experimentelle Untersuchungen. I. Mitteilung: Beziehungen zwischen dem Milchsäuregehalt des Blutplasmas und des Kammerwassers. S. 1.

Wladimirow, G. E. s. *M. J. Galvialo.*

Wolff, C. J. de. Die Saccharosebildung in Kartoffeln während des Trocknens. I. S. 225.

Zeller, Heinrich. Wirkung N-haltiger Substanzen auf die Hefegärung. V. S. 134.

— Steigerung der Hefegärung durch Urin. VI. S. 142.

Seite
Autorenverzeichnis 501

Verlag von
Abgeschlossen
Lexikon der
Bd. II. erschienen
Subskriptionspreis
Ausführliche Prospekte
Subskriptionsschein.
Ich bestelle hiermit
Lexikon der
Bd. II. erschienen
Subskriptionspreis
Ausführliche Prospekte
Subskriptionsschein.
Ich bestelle hiermit